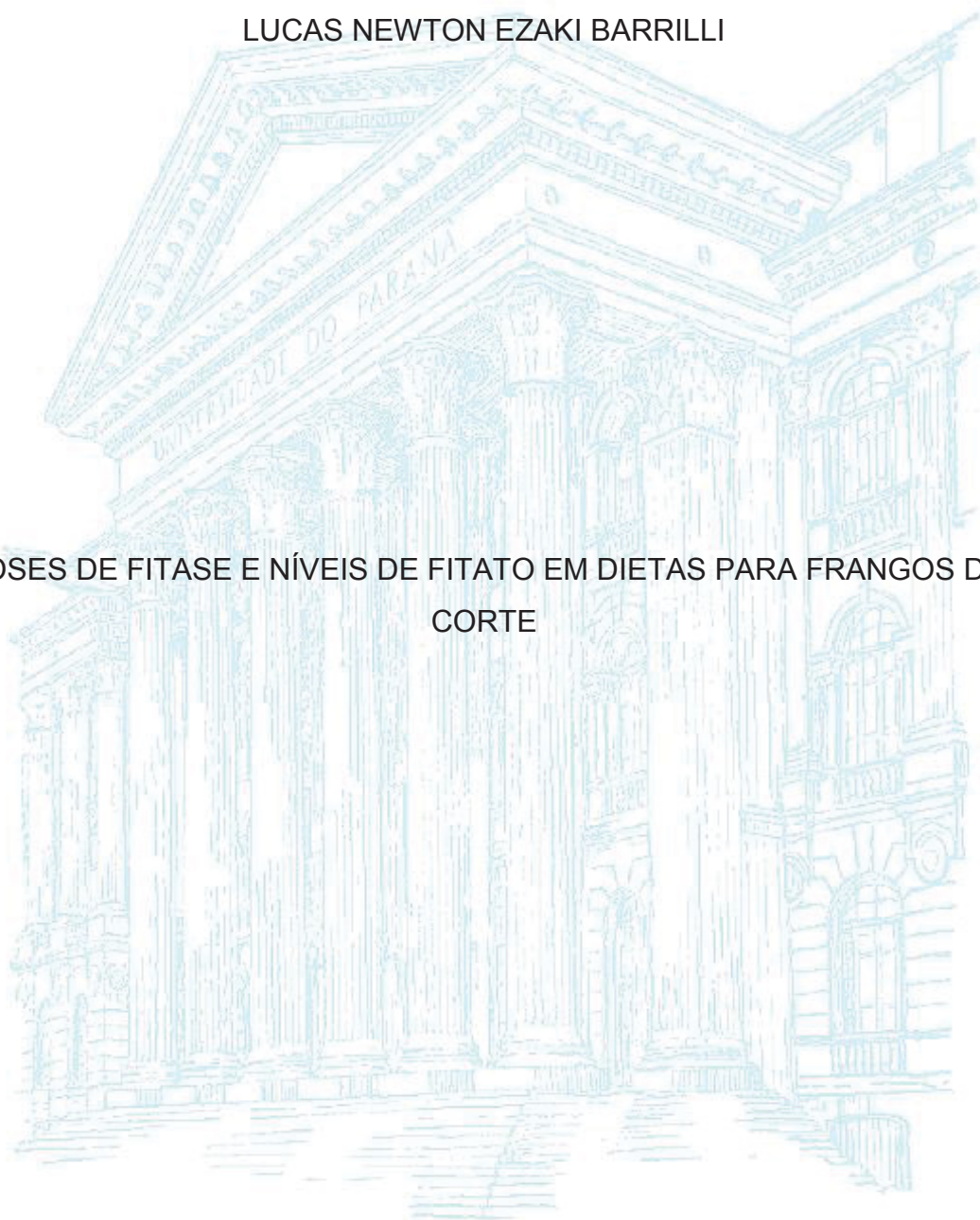


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCAS NEWTON EZAKI BARRILLI

DOSES DE FITASE E NÍVEIS DE FITATO EM DIETAS PARA FRANGOS DE
CORTE



CURITIBA

2019

LUCAS NEWTON EZAKI BARRILLI

DOSES DE FITASE E NÍVEIS DE FITATO EM DIETAS PARA FRANGOS DE
CORTE

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Área de concentração de Nutrição animal de não ruminantes, Setor Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Simone Gisele de Oliveira

CURITIBA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

B275d Barrilli, Lucas Newton Ezaki
Doses de fitase e níveis de fitato em dietas para frangos de corte
/ Lucas Newton Ezaki Barrilli. - Curitiba, 2019.
89 p.: il.,

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de
Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
Orientadora: Simone Gisele De Oliveira

1. Frango de corte. 2. Ácido fítico - Efeito fisiológico. 3. Dieta
veterinária. I. Oliveira, Simone Gisele De (Orientadora). II. Título.
III. Universidade federal do Paraná.

CDU 636.5.084



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -
40001016082P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **LUCAS NEWTON EZAKI BARRILLI** intitulada: **Doses de fitase e níveis de fitato em dietas para frangos de corte**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 25 de Fevereiro de 2019.



SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



CHAYANE DA ROCHA

Avaliador Interno (UFPR)


ALEX MAIORKA

Avaliador Interno (UFPR)


EVERTON LUIS KRABBE

Avaliador Externo (EMBRAPA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 120/2016, referente ao projeto “Superdosing de fitase em dietas para frangos de corte e seus efeitos adicionais”, sob a responsabilidade de Alex Maiorka – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 07/12/2016.

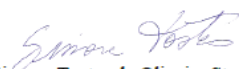
Vigência do projeto	Janeiro/2017 até Fevereiro/2017
Espécie/Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> (ave doméstica) / COBB
Número de animais	2808
Peso/Idade	45 g / 1 dia
Sexo	Macho
Origem	Incubatório GEAL em Carambeí – PR

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 120/2016, regarding the project “Superdosing of phytase in diets for broilers and their additional effects” under Alex Maiorka supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 07/12/2016.

Duration of the project	January/2017 until February/2017
Specie/Line	<i>Gallus gallus domesticus</i> (fowl) / COBB
Number of animals	2808
Wheight/Age	45 g / 1 day
Sex	Male
Origin	GEAL Incubatory in Carambeí – PR

Curitiba, 7 de dezembro de 2016.


Simone Tostes de Oliveira Stedile
Coordenadora CEUA-SCA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 121/2016, referente ao projeto “Superdosing de fitase em dietas para frangos de corte e seus efeitos adicionais”, sob a responsabilidade de Alex Maiorka – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 2 de invasividade, em reunião de 07/12/2016.

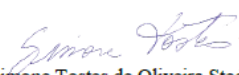
Vigência do projeto	Fevereiro/2017 até Março/2017
Espécie/Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> (ave doméstica) / COBB
Número de animais	1408
Peso/Idade	45 g / 1 dia
Sexo	Macho
Origem	Incubatório GEAL em Carambei – PR

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 121/2016, regarding the project “Superdosing of phytase in diets for broilers and their additional effects” under Alex Maiorka supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 2 of invasiveness, in session of 07/12/2016.

Duration of the project	February/2017 until March/2017
Specie/Line	<i>Gallus gallus domesticus</i> (fowl) / COBB
Number of animals	1408
Weight/Age	45 g / 1 day
Sex	Male
Origin	GEAL Incubatory in Carambei – PR

Curitiba, 7 de dezembro de 2016.


Simone Tostes de Oliveira Stedile
Coordenadora CEUA-SCA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, e pelas oportunidades concedidas.

Ao meu filho Bernardo e minha esposa Michelle pela compreensão das ausências e estresses.

Aos meus Pais, Silvia e José pelo amor e apoio.

Aos professores Alex Maiorka e Simone G. Oliveira pela oportunidade de concluir mais esta etapa, pela amizade, e pelos conselhos concedidos nos momentos de dúvida.

A UFPR, ao Setor de Ciências Agrárias e ao Departamento de Zootecnia e a Fazenda experimental do Canguirí que durante 12 anos de minha vida foram minha segunda casa.

Ao grupo de estudos LEPNAN ao qual dediquei grande parte da minha vida acadêmica e tenho muito orgulho de ter participado.

A NU3 soluções e apoio a empresas Ltda, empresa que foi incubada na agência de inovação da UFPR e que tive o prazer de ser um dos fundadores.

A UFSC que tive oportunidade de ser professor substituto durante um ano e que me trouxe grandes desafios pessoais e profissionais.

A BRF de Lucas do Rio Verde, MT, em especial ao Paulo Lesskiu e também a toda equipe da fábrica de rações, Volmir, Valquíria e Ismael que foram grandes “professores”.

A equipe de Nutrição da BRF.

Aos amigos que a vida acadêmica me trouxe, ZooLargados (Vini, Jean, Ronan, Gus, Jacaré (Fábio), Scarpa (Cleverson), Stifler (Carlos)). Aos amigos Massu (Andreia), Taby, Dani, Josi, Leopoldo, Thiago Canceli, Taveira, Bassi, Zavela, Gabi e Manu com toda certeza vocês foram essenciais. Obrigado por toda parceria nos momentos de trabalho e descontração.

Aos funcionários da fazenda canguiri, em especial Ismael da fábrica de rações e Osmael.

A todos o meu muito obrigado por tornar esta jornada incrível.

"Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor lembre-se: se escolher o mundo ficará sem o amor, mas se escolher o amor com ele você conquistará o mundo."

Albert Einstein

RESUMO

Conhecendo os efeitos negativos da presença de fitato em dietas para frangos de corte e os benefícios da adição de fitase este estudo teve como objetivo demonstrar os efeitos da inclusão de altas doses de fitase em dietas para frangos de corte contendo diferentes níveis de fitato e seus efeitos. Foram realizados 2 experimentos divididos em 2 capítulos nesta tese. Experimento 1 foram utilizados 4 tratamentos: níveis preconizados (NP) de cálcio (Ca) 0,770 e fósforo disponível (P_d) 0,366, níveis reduzidos (NR) Ca (-0,192) e P_d (-0,175), NR + 750FTU/kg e NR + 1500FTU/kg e no experimento 2 foram 6 tratamentos em esquema fatorial 2 x 3 (2 níveis de fitato médio e alto (MF e AF) e três níveis de fitase (0, 750 e 1500 FTU/kg de fitase) e somente níveis reduzidos de Ca (-0,192) e P_d (-0,175) ambos sobre o desempenho dos animais (consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA)), rendimento de carcaça, digestibilidade ileal e composição óssea (cálcio e fósforo). No experimento 1 aos 21 e 42 dias foi observado melhor GP e CA ($P < 0,01$) no tratamento NP comparado aos demais tratamentos. O rendimento de carcaça foi maior nos tratamentos NP, NR+750 e NR+1500 ao comparar com o NR ($P < 0,01$). Não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) em nenhuma das variáveis de digestibilidade. Foi observado RM e %P nos ossos ($P < 0,01$) menor apenas no tratamento NR sem adição de fitase. No experimento 2 em todas as idades avaliadas os animais que receberam fitase na dieta, apresentaram maior CMR ($P < 0,0001$). Houve efeito de interação para os níveis de fitato e fitase para as variáveis de CDA de MS, PB e EB ($P < 0,0001$). Com inclusão de 1500 FTU/kg de fitase na dieta, os animais que receberam dieta contendo AF apresentaram melhor CDA em todos os parâmetros. Os animais que receberam dieta contendo Fitase (750 e 1500 FTU/kg) apresentaram maior peso de osso, %RM, %Ca e %P, quando comparado ao tratamento sem Fitase ($P < 0,01$). Já em relação ao Fitato, os animais que receberam dieta com MF apresentaram maior %P quando comparado aos animais que receberam dieta com AF. Conclui-se que a adição de 750 ou 1500 FTUs de fitase em dietas com baixos níveis de fitato foram capazes de manter iguais ao tratamento controle a digestibilidade das frações avaliadas e a qualidade óssea, porém não foram capazes de manter o mesmo desempenho que o tratamento NP. Quando trabalhamos com dietas com níveis reduzidos de Ca e P e adição de fitase é possível melhorar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta na presença de altos níveis de fitato, além de manter as características ósseas.

Palavras-chaves: Nutrição. Desempenho. Digestibilidade. Cinzas ósseas.

ABSTRACT

Knowing the negative effects of the presence of phytate in diets for broiler chickens and the benefits of phytase addition, this study aimed to demonstrate the effects of high phytase inclusion in diets for broiler chickens containing different phytate levels and their effects. Two experiments were carried out divided in Experiment 1 was performed with 4 treatments: normal levels (NL) of calcium (Ca) 0.770 and available phosphorus (Pd) 0.366, reduced levels (RL) Ca (-0.192) and Pd (-0.175), RL + 750FTU / kg and RL + 1500FTU / kg. The experiment 2 were 6 treatments in a 2 x 3 factorial desing (2 medium and high phytate levels (MF and HF) and three phytase levels (0, 750 and 1500 FTU / kg phytase) and only RL of Ca (-0.192) and Pd (-0.175) in feed intake (FI), weight gain (WP) and feed conversion (FCR), carcass yield, ileal digestibility and bone composition (calcium and phosphorus). In the experiment 1 at 21 and 42 days, better WG and FCR ($P < 0.01$) were observed in the NL treatment compared to the other treatments. Carcass yield was higher in NL, RL + 750 and RL + 1500 treatments when compared to RL ($P < 0.01$). No statistical difference ($P > 0.05$) was observed in any of the digestibility variables. The percentage of P in the bones ($P < 0.01$) were observed only in the RL treatment without addition of phytase. In experiment 2 at all ages, the animals that received phytase in the diet presented higher FI ($P < 0.0001$). There was an interaction effect for the phytate and phytase levels for the ileal digestibility variables of DM, CP and CE ($P < 0.0001$). With inclusion of 1500 FTU / kg of phytase in the diet, animals fed AF-containing diet showed better ileal digestibility in all parameters. The animals receiving a diet containing Phytase (750 and 1500 FTU / kg) presented higher bone weight, % RM, % Ca and % P, when compared to treatment without Phytase ($P < 0.01$). In relation to Fitato, the animals that received diet with MF presented higher % P when compared to the animals that received diet with FA. It was concluded that the addition of 750 or 1500 FTUs of phytase in diets with low levels of phytate were able to maintain equal to the control treatment the digestibility of the evaluated fractions and the bone quality, but were not able to maintain the same performance as the treatment NL. When we work with diets with reduced levels of Ca and P and addition of phytase it is possible to improve the coefficients of apparent digestibility of dry matter, crude protein and crude energy in the presence of high levels of phytate, in addition to maintaining the bone characteristics.

Key-words: Nutrition. Performance. Digestibility. Bone Ash.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

FIGURA 1 - MOLÉCULA DE FITATO	20
FIGURA 2 - AÇÕES DO MIO INOSITOL NO ORGANISMO	33

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1 - TEOR DE FITATO (PP6) (%) NOS DIFERENTES INGREDIENTES VEGETAIS UTILIZADOS NAS DIETAS DE FRANGO DE CORTE.	211
---	-----

CAPÍTULO II

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS E NÍVEIS NUTRICIONAIS	44
TABELA 2 - CONSUMO DE RAÇÃO, GANHO DE PESO E CONVERSÃO ALIMENTAR DE FRANGOS DE CORTE 1 A 42 DIAS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO BAIXOS NÍVEIS DE FITATO SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE.....	47
TABELA 3 - RENDIMENTO DE CARCAÇA, PEITO E COXA E SOBRECOXA DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO BAIXO NÍVEL DE FITATO E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE.	48
TABELA 4 - COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE ILEAL DA MATÉRIA SECA (CDMS), APARENTE DA PROTEÍNA BRUTA (CDAPB), APARENTE DA ENERGIA (CDAEB) AOS 21 DIAS DE IDADE DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO BAIXOS NÍVEIS DE FITATO E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE	48
TABELA 5 - RESÍDUO MINERAL (RM), PORCENTAGEM DE CÁLCIO (CA) E PORCENTAGEM DE FÓSFORO (P) AO 21 DIAS DE IDADE DA TÍBIA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO BAIXOS NÍVEIS DE FITATO E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE	49

CAPÍTULO III

TABELA 1 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 1 A 21 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.....	631
TABELA 2 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 22 A 35 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.	633
TABELA 3 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 36 A 42 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.	655

TABELA 4 - CONSUMO DE RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE NILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE.....	70
TABELA 5 - GANHO DE PESO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE NILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE.....	Erro! Indicador não definido. 71
TABELA 6 - CONVERSÃO ALIMENTAR DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE NILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE.....	722
TABELA 7 - RENDIMENTO DE CARCAÇA, PEITO E COXA E SOBRE COXA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE AOS 42 DIAS DE IDADE	733
TABELA 8 - COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE ILEAL DE DIFERENTES FRAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE AOS 21 DIAS	74
TABELA 9 - PESO E COMPOSIÇÃO DE RESÍDUO MINERAL (RM), PERCENTUAL DE CÁLCIO (%CA) E PERCENTUAL DE FÓSFORO (%P) DE TÍBIA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE AOS 21 DIAS DE IDADE	75

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AF	- Alto Fitato
ANOVA	- Análise de variância
AOAC	- Association of Official Analytical Chemists
ATP	- Adenosina trifosfato
C ₆ H ₁₈ O ₂₄ P ₆	- Ácido Fítico
Ca	- Cálcio
CA	- Conversão Alimentar
CDA	- Coeficiente de digestibilidade Aparente
CIA	- Coeficiente de indigestibilidade Aparente
Co	- Cobalto
CR	- Consumo de ração
Cu	- Cobre
DGM	- Diâmetro geométrico médio
EB	- Energia Bruta
Fe	- Ferro
FI	- Fator indigestibilidade
FTU	- Unidade que a Fitase é expressa
FYT	- Unidade que a atividade da Fitase é expressa
GLUT4	- Transportador de Glicose tipo 4
GP	- Ganho de peso
HPLC	- Cromatografia Líquida de alta eficiência
IP1	- Mio inositol monofosfato
IP3	- Inositol 3 fosfato
IP5	- Inositol 5 fosfato
IP6	- Inositol 6 fosfato
Kcal	- Quilocaloria
Kg	- Quilograma
MF	- Médio Fitato
Mg	- Milligrama
MI	- Mio inositol
Mn	- Manganês
MS	- Matéria Seca

Na	- Sódio
NC	- Níveis convencionais
NIR	- Espectrômetros de infravermelho próximo
NR	- Níveis reduzidos
P	- Fósforo
PB	- Proteína Bruta
RM	- Resíduo Mineral
RMN	- Ressonância Magnética nuclear
RW	- Reagente de Wade
Zn	- Zinco

SUMÁRIO

	CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS	17
1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITTERATURA.....	19
2.1	FITATO.....	19
2.1.1	Quatificação de fitato	21
2.2	FITASE	23
2.2.1	Histórico da utilização das fitases	27
2.2.2	Funções extrafosfóricas da fitase	28
2.3	MIO INOSITOL	31
2.3.1	Uso do mio inositol para frangos de corte.....	32
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
	CAPÍTULO ii - EFEITO DA INCLUSÃO DE ALTAS DOSES DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE CONTENDO BAIXOS NÍVEIS DE FITATO	38
	RESUMO	38
	ABSTRACT	39
1	INTRODUÇÃO	40
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.1	ANIMAIS E LOCAL EXPERIMENTAL.....	42
2.2	DIETAS EXPERIMENTAIS.....	42
2.3	DESEMPENHO	43
2.4	ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE ILEAL E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS	43
2.5	RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES.....	43
2.6	ANÁLISES QUÍMICAS.....	45
2.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	46
3	RESULTADOS	47
4	DISCUSSÃO	50
5	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	53
	CAPÍTULO III - EFEITO DA INCLUSÃO DE FITASE NO DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARCAÇA, DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS	

ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO.....	55
RESUMO	55
ABSTRACT	56
1 INTRODUÇÃO	57
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
2.1 ANIMAIS E LOCAL EXPERIMENTAL.....	59
2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS.....	59
2.3 DESEMPENHO	67
2.4 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE ILEAL E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS	67
2.5 RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES.....	67
2.6 ANÁLISES QUÍMICAS.....	68
2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	69
3 RESULTADOS	70
4 DISCUSSÃO	76
5 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	80
CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
REFERÊNCIAS	84

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as dietas para frangos de corte têm como base milho e farelo de soja. Porém, estes ingredientes de origem vegetal contêm um componente em sua conhecido como fitato ou Mio-inositol 6 fosfato. Segundo Konietzny e Greiner (2002), os fitatos, são naturalmente produzidos pelas plantas durante o processo de maturação das sementes e dos grãos de cereais como a forma mais eficaz de armazenamento do fósforo (P), sendo um mineral essencial para a germinação (SILVA e SILVA, 1999). Segundo Cowieson et al. (2008) o fitato tem a capacidade de interagir com outros componentes da dieta, reduzindo a capacidade de absorção de minerais como cálcio, ferro, manganês, proteínas, peptídeos e aminoácidos além aumentar a perda endógena, desta forma afetando também a utilização de energia das aves.

Conhecendo os efeitos negativos do fitato em dietas para frangos de corte uma forma de elimina-los é por meio da utilização de enzimas exógenas como as fitases, ou mio-inositol (1,2,3,4,5,6) hexafosfatato fosfohidrolase que são um subgrupo das fosfomonoesterases capazes de desfosforilar os fitatos, podendo liberar fósforo fítico, além de outros nutrientes e reduzir seus efeitos anti nutritivos.

A utilização das fitases exógenas já está bem estabelecida na nutrição de aves, sendo relatada em dietas de frango de corte desde a década de 1930 com melhora na utilização do P e na mineralização óssea (STEENBOCK et al., 1939). Na década de 1990, as fitases foram relacionadas com a diminuição da excreção deste mineral no meio ambiente, estratégia esta, que em conjunto com o alto preço das fontes de fósforo, fez com que a fitase tomasse força no mercado de enzimas. Além destes benefícios, é uma alternativa ao uso de farinhas de origem animal que são uma fonte de P barata, porém com composição variável, restrição mercadológica e que podem carrear micro-organismos para dieta das aves.

Nos dias atuais a fitase passou a ser explorada não somente para liberação de fósforo fítico, mas também como uma ferramenta de redução dos efeitos anti nutritivos do fitato e de disponibilização de outros nutrientes ligados a molécula de fitato ou que podem se ligar a ela durante o processo digestivo das aves. Os efeitos além da liberação de fósforo fítico por meio da adição das fitases foram nomeados

como efeitos extra fosfóricos, e esses efeitos podem ser alcançados quando se utilizam doses até 3 vezes maiores do que as recomendadas para a liberação do fósforo fítico. A prática de se utilizar doses maiores de fitase em dietas para não ruminantes ficou conhecida como super dosagem de fitase.

A utilização de super dosagem de fitase e seus efeitos extra fosfóricos podem ser observados de várias formas, como melhora no desempenho zootécnico, aumento no coeficiente de digestibilidade dos nutrientes das dietas, redução das perdas endógenas e o aumento da presença de mio-inositol circulante nas aves. O mio-inositol (MI) é o produto final da hidrólise total do fitato, liberando 6 fosfatos e 1 anel de mio-inositol. Em frangos de corte já se observa melhoras no desempenho quando se tem maior presença de mio-inositol circulante, porém não se sabe ao certo suas vias de ação, mas seu aumento no organismo melhora o sistema imune, osteogênese, desenvolvimento celular, embrionário, fertilidade e as funções do sistema nervoso central.

Conhecendo os efeitos negativos da presença do fitato em dietas para frangos de cortes e os efeitos da utilização de super dosagem de fitase este estudo busca demonstrar os efeitos de diferentes doses fitase e níveis de fitato em dietas para frangos de corte.

2 REVISÃO DE LITTERATURA

2.1 FITATO

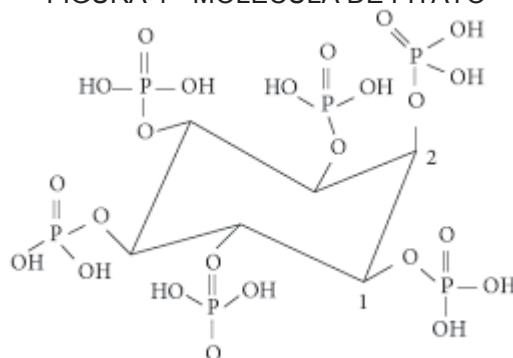
O fitato é a principal forma de armazenamento de fósforo (P) durante o desenvolvimento de grãos, legumes e sementes, e é sintetizado a partir da fosforilação completa do mio-inositol. Este composto está presente em dietas que contêm ingredientes de origem vegetal, como as dietas que utilizamos no Brasil para frangos de corte, baseadas em milho e farelo de soja.

Na literatura podemos encontrar três terminologias para se referir ao fitato, o termo mais comum fitato é a mistura de sais de ácido fítico (mio inositol hexafosfato; IP6), outro termo a Fitina, este usado para se referir especificamente ao complexo de mio-inositol hexafosfato complexado a moléculas de potássio, magnésio e cálcio e por último o ácido fítico que seria a forma livre do mio-inositol hexafosfato; IP6 (SALE & RAVINDRAN, 2007).

Antes da identificação de atividade enzimática de fitases nas plantas de arroz, foi identificado nas plantas em 1855 por Hartig os fitatos. Os fitatos são uma classe complexa de compostos/ mistura de sais de mio inositol que ocorrem naturalmente no processo de maturação de sementes e grãos de cereais (TORRE et al., 1991). Em sementes de leguminosas o fitato concentra aproximadamente 70% do conteúdo de P, sendo a principal forma de armazenamento além de estar integrado a outras moléculas como minerais e proteínas (ZHOU & ERDMAN, 1995). Segundo Santos (2013), os fitatos tem um importante papel nas sementes, sendo responsáveis pela prevenção do estresse oxidativo, evitando a morte do embrião, isso devido a habilidade do fitato em se quelatar com minerais como Fe, Ca e Zn, reduzindo a formação de compostos pró oxidantes que possam prejudicar o processo de desenvolvimento do embrião.

A molécula de Fitato (Figura 1) é descrita como ($C_6H_{18}O_{24}P_6$), seu peso molecular é de 660 g/mol e concentração aproximada de P é de 282g/kg (SALLE et al, 2011).

FIGURA 1 - MOLÉCULA DE FITATO



Os fitatos são moléculas muito reativas, apresentam 12 prótons dissociáveis com pK's variando de 1,5 a 10. Em pH abaixo de 1 a molécula de fitato terá carga neutra, tornando-se pouco reativo, porém quando exposto a uma faixa de pH entre 1,1 e 2 o fitato perde 6 prótons e torna-se carregado negativamente, sendo capaz de reagir com aminoácidos de carácter básico e resíduos de proteínas (DAYYANI et al., 2013). Dados anteriores como nos estudos Nolan et al. (1987) já observavam a influência das cargas na molécula de fitato e sua reatividade. Sandberg et al. (1989) descreve que somente IP5 e IP6 tem efeito negativo na biodisponibilidade de minerais, nos levando a acreditar que quanto mais rápido esses compostos forem quebrados menor será a ação deles para indisponibilizar nutrientes que tem afinidade com a molécula de fitato. Além dos pK's outras condições como pH, concentração e presença de outros minerais podem influenciar a interação destes com o fitato, isso porque o fitato apresenta cargas negativas conferindo-lhe uma grande capacidade de complexar-se com moléculas carregadas positivamente como é o caso de proteínas e alguns micro minerais. Por isso é tão importante a degradação do fitato na porção inicial do trato digestório das aves pois estudos realizados por Oberleas (1973), demonstram que fitato em pH próximo a 7 forma complexos com metais com Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} e Ca^{2+} indisponibilizando-os para absorção dos frangos de corte.

Dietas de frango de corte a base milho e farelo de soja podem conter em sua composição em média 2,5g/kg de fósforo fítico podendo variar conforme tipo do ingrediente, local de produção, época do ano e tempo de armazenagem. Alguns ingredientes tiveram a quantidade média de fitato IP6 mensurada por Kasim & Edwards (1998), (Tabela 1).

TABELA 1 - TEOR DE FITATO (IP6) (g/kg) NOS DIFERENTES INGREDIENTES VEGETAIS UTILIZADOS NAS DIETAS DE FRANGO DE CORTE.

Ingredientes	Quatificação de Fitato IP6 (g/kg)
Milho	0,972
Farelo de Arroz	0,878
Sorgo	0,972
Farelo de Soja	0,844
Trigo	1,00

Fonte: Adaptado de Kasim & Edwards (1998)

Hoje o conhecimento sobre a composição de ingredientes e a quatificação de fitato se faz muito importante uma vez que esta molécula é classificada por (SWICK & IVEY, 1992) como um fator anti nutricional devido sua capacidade em se complexar com nutrientes tornando os indigestível (SALLE et al, 2011)

O fitato representa uma importante fonte de P e que precisa ser explorado a partir da utilização da fitase. Porém, segundo Santos (2013), os estudos demonstram que as fitases são capazes de disponibilizar este P fítico porém em função da grande interação da molécula de fitato com outros nutrientes as aves muitas vezes não conseguem absorver os demais nutrientes complexados com esse composto.

2.1.1 QUATIFICAÇÃO DE FITATO

A concentração de fitato nas dietas é variável devido as diferenças nas concentrações de fitato nos ingredientes ocasionados por fatores como, clima e da forma de cultivo.

Para quantificar o fitato presente nos ingredientes, dietas e excretas, vários métodos têm sido utilizados. A maioria dos métodos para quantificação são derivados dos procedimentos descritos por Heubner e Standler (1914) baseados na precipitação do íon férrico com fitato em solução ácida.

Atualmente as principais metodologias para determinação do fitato são: Método Colorimétrico, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) além de medida indireta por meio do equipamento NIR (Near Infrared).

O método colorimétrico é derivado do método descrito por Heubner & Standler (1914) que se baseia na reação entre íon Férrico Fe^{3+} e o ácido

sulfossalicílico conhecido como reagente de Wade – RW formando um complexo de cor rosa escuro que possui absorção máxima em $\lambda = 500 \text{ nm}$. Na presença do fitato o ferro liga-se ao grupo fosfato deixando-o indisponível para reagir com o ácido sulfossalicílico reduzindo assim a intensidade da cor do RW. Entretanto o método tem limitações, pois o ferro do RW não discrimina o fósforo fítico do fósforo inorgânico podendo ligar-se a qualquer um dos dois tipos de grupamentos fosfatos presentes na amostra. Para corrigir este efeito, pode ser feita uma purificação da amostra em resina de troca aniônica (Cromatografia preparativa para separar fitato do fósforo inorgânico) tendo uma recuperação de 95 a 99% do fitato retido na resina segundo metodologia descrita por Latta & Eskin (1980). Para finalizar, após a correlação com uma curva padrão de ácido fítico o resultado é multiplicado por 0,282 (constante corresponde a proporção molar do P na molécula de inositol 6 fosfato) para expressar o teor de fósforo fítico na amostra.

A metodologia de colorimetria é uma avaliação de quantificação de fitato acessível, porém tem limitações por não discriminar as diferentes frações fosfatadas do mio-inositol. Como não é possível diferenciar as frações é preciso avaliar se essa limitação pode ter influência, principalmente nas excretas de aves alimentadas com ração suplementadas com fitase exógena uma vez que a hidrólise do fitato pode gerar produtos de diferentes graus de fosforilação do mio-inositol podendo haver uma superestimação do fósforo fítico.

Alguns métodos são mais precisos para análise de Fitato, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) conseguem distinguir IP3 e IP6. Outra metodologia por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), também têm sido desenvolvida, porém exigem equipamentos sofisticados de alto custo, tornando a análise onerosa.

Ainda não existe uma metodologia padronizada para a determinação do fitato, e não se sabe ao certo os efeitos que a metodologia pode causar nas interpretações dos resultados experimentais, porém fica claro que dependendo da metodologia utilizada poderemos ter interpretações de resultados diferentes especialmente quando não conhecermos as dietas e o tipo de ação da fitase utilizada nos estudos.

O desenvolvimento de curvas para leitura em equipamento NIR já é uma realidade, porém os resultados de quantificação de fitato nas amostras ainda não trazem uma leitura segura, mas será um grande passo para podermos avaliar a

composição das dietas e adaptar ad doses de fitase para termos as melhores respostas de desempenho animal.

2.2 FITASE

Uma das condições fundamentais para a vida é que os organismos sejam capazes de catalisar reações químicas de forma eficiente. A forma mais eficiente de se fazer isso é por meio de reações catalisadas por enzimas. Por definição, todas as enzimas são proteínas, as enzimas são altamente especializadas, apresentam uma alta eficiência catalítica e aceleram as reações químicas em soluções aquosas sob condições muito específicas de temperatura e pH. (LENINGHER, 2011).

Segundo SALANOVA (1996) animais possuem enzimas endógenas que auxiliam na catalisação de substratos presentes nas dietas, porém alguns ingredientes ingeridos possuem moléculas em sua composição que animais não ruminantes são incapazes de digerir, como paredes celulares e os sais de fitato presentes nos vegetais. Para auxiliar na degradação destes compostos anti nutritivos é possível adicionar enzimas exógenas nas dietas destes animais, complementando a pouca produção destas enzimas, somando as demais enzimas presente no organismo ou até mesmo adicionando enzimas que os animais não são capazes de sintetizar.

Uma das enzimas mais consolidadas na avicultura moderna são as fitases. São um subgrupo das fosfomonoesterases capazes de desfosforilar os fitatos, e têm sua atividade ótima sem a dependência de cofatores (SALLE & RAVINDRAN, 2007; BEDFORD & PARTRIGE, 2011) As fitases podem ser encontradas em sementes, microorganismos e de forma menos frequente em tecidos animais.

A primeira detecção de fitase foi a mais de 110 anos por Suzuki et al. (1907) quando detectaram atividade enzimática em grãos de arroz, a partir de então as fitases vem sendo estudadas como melhoradores de desempenho em animais de produção e para redução de custo com formulações de dietas.

Em geral as fitases são divididas em grupos que contemplam tamanho, estrutura e mecanismo catalítico, baseado neste último podemos nos referir as fitases como Histidina fitase ácidas, Beta propileno fitase, cisteína fitase e fitase roxa ácida (MULLANEY & ULLAH, 2003; GREINER, 2006). Dependendo do pH de atuação, as fitases ainda podem ser divididas em fitases ácidas ou alcalinas e conforme o número do anel de mio inositol que se inicia a desfosforilação podem ser

classificadas entre 3-fitase (E.C.3.1.3.8) que inicia a hidrólise no carbono 3, e a 6-fitase (E.C.3.1.3.72) que inicia a hidrólise no carbono 6.

As três enzimas fitases comumente utilizadas são derivados de *A. niger*, que é um 3-fitase (origem fungica) e tem pH de atuação ótimo variando de 2,5 a 5,5 e *Peniophora Lycii* e *Escherichia coli*, que são 6-fitases (origem bacteriana) e tem pH ótimo de atuação entre 4,0 e 4,5 (GREINER & KONIETZNY, 2016).

As fitases presentes no mercado são em sua maioria 6-fitases onde a enzima iniciará a desfosforilação do anel de mio-inositol no carbono 6 seguindo uma sequência de quebra de fosfatos de inositol (IP) $IP_6 \Rightarrow IP_5 \Rightarrow IP_4 \Rightarrow IP_3 \Rightarrow IP_2 \Rightarrow IP_1$ tendo como produtos finais da reação 1 inositol + 6 fósforos inorgânicos (IP). Sendo o P ligado ao carbono 2 do anel de mio-inositol é altamente reativo a hidrólise, desta forma muitas vezes o que teremos de produto final da desfosforilação serão 5 IP + 1 mio inositol monofosfato (IP1) (WODZINSKI & ULLAH, 1996).

Como toda enzima dependente de condições específicas, a habilidade das fitases em hidrolizar o fitato no trato gastrointestinal é dependente do pH do meio em que ela se encontra. Em frangos de corte o pH do papo encontra-se entre 4,0 e 5,0, no proventrículo e moela entre 2,0 e 5,0 e no intestino delgado o esse pH aumenta até próximo de 7,5 por isso se faz necessário conhecer as fitases e saber em qual porção do trato gastrointestinal ela terá sua maior atuação. Portanto, dependendo do tipo de fitase utilizada a maior atividade poderá ocorrer em porções diferentes ao longo do trato gastrointestinal, por exemplo, as fitases microbianas com características ácidas e que apresentam pH ótimo por volta de 5,0 terão sua maior atividade na porção proximal, no início do trato gastrointestinal, sendo assim o local em que a desfosforilação do Fitato ocorrerá primeiro será no papo seguido de proventrículo e moela. Em trabalho de Onyango et al. (2005), comparando as fitases de origem bacteriana e fúngica, os autores observaram que por todos os seguimentos do trato gastrointestinal de frangos de corte a fitase de origem bacteriana teve sempre maior atividade quando comparada a fitase de origem fungica indicando que as 6-fitases de origem bacteriana podem ser mais resistentes/adaptadas ao trato gastrointestinal das aves. Também podemos citar como vantagem, a resistência das fitases a ação de enzimas proteolíticas e pancreáticas, em que foi observado que as fitases de origem bacteriana ao serem submetidas à ação enzimática de pepsina (pH 2,0) e pancreatina (pH 7,0) mantiveram mais de 80% da sua atividade após a digestão comparadas as fitases de origem fungica que apresentam atividade em torno de 2 a

42% (SIMON & IGBASAN, 2002). Uma das vantagens de se utilizar as 6-fitases é a velocidade de hidrólise do fitato, Prata et al. (2007) comparando fitases fungicas (3-fitase) com fitases bacterianas (6-fitase) em pH de 2,5 e 3,5 observou que as fitases bacterianas geneticamente modificadas foram mais eficientes em hidrolisar esteres IP6 e IP5 que são os com maior potencial de quelação com outras moléculas como minerais e proteínas/aminoácidos.

Além desses benefícios, as fitases bacterianas podem apresentar mais resistência a temperatura quando comparadas as fitases de origem fúngicas. Enquanto as enzimas produzidas a partir de fungos (3-fitases) apresentam resistência térmica de 75°C as produzidas por bactérias podem chegar até 90°C tornando-as resistentes aos processamentos térmicos em que as dietas podem ser submetidas.

Além de ser necessário ter o conhecimento sobre as enzimas é necessário saber as metodologias utilizadas para medir sua efetividade Esta informação é de fundamental importância para que se utilize as metodologias corretas para cada tipo de enzima e para que não ocorra erros que possam comprometer as interpretações dos resultados. O órgão reconhecido mundialmente como a organização que padronizada todas as análises a AOAC, para facilitar a comparação entre diferentes produtos/marcas comercial em 2000 definiu a metodologia para análise de fitases. A metodologia segue o método enzimático colorimétrico em que a fitase é incubada em uma solução de fitato sódico a 37°C +- 0,1°C e pH 5,5, e em um momento específico essa incubação é interrompida e é adicionado ácido molibdênio/vanádio que se complexarão com o fosfato liberado pela fitase e formará um complexo de cor amarelada e que pode ser mensurado em fotômetro no comprimento de onda de 415nm. Apesar disso, outras variáveis da metodologia existem podendo dar respostas semelhantes. A AOAC dentro da descrição da metodologia insere uma nota sobre a influência que alguns íons como Cu, Fe, Zn podem inibir a atividade enzimática. A partir desta metodologia pode-se expressar a atividade de uma fitase como sendo a quantidade enzima necessária para liberar 1 mol de ortofosfato inorgânico por minuto sob as condições impostas, esse valor será expresso em FTU/kg que significa unidade de fitase. Uma variação de FTU é FYT/kg é a quantidade de enzima que libera 1 micromole fosfato inorgânico por em solução de fitato de Na 0,0051 M e pH 5,5 e 37°C, desta forma apesar de nomenclaturas diferentes podemos considerar as duas classificações como sendo equivalentes

(RUCKEBUSH & GLITSOE, 2013).

Apesar das diferentes formas de se expressar a atividade das fitase, quando as utilizamos nas dietas de frango de corte elas podem ser adicionadas de diferentes forma seca (granulada) ou liquidampor sistema de adição de líquidos pos-pelete. Este último pode evitar problemas de termoestabilidade devido ao condicionamento térmico $>80^{\circ}\text{C}$ para peletização das rações. Porém a maioria das enzimas presentes hoje no mercado usam tecnologias que permitem que as fitases possam ser utilizadas de forma granulada e passar por condicionamentos agressivos sem que tenham grandes impactos em sua atividade enzimática.

Atividade de enzima fitase já foi observada em plantas, micro-organismos e tecido animal, desta forma não se pode ignorar que as dietas para frangos de corte em sua maioria a de base vegetal, podendo conter algum nível de fitase em sua composição e que podemos quantificar, mas não consideramos na formulação de dietas. Essas fitases estão presentes em alguns ingredientes como cevada, trigo, centeio, triticales, porém tem suas atividades muito restritas no trato gastrintestinal devido a dependência de um pH muito específico para atuação (EECKHOUT & DE PAEPE, 1991) Além disso, são menos resistentes a pH baixos quando comparadas as fitases de origem microbiana.

Outros autores como Maenz & Classen (1998) e Kerr et al. (2000) descreveram atividades de fitase nas mucosas do intestino e na microbiota de frangos de corte. Tamim et al. (2004) observaram que na região da mucosa intestinal aproximadamente 70% do fósforo fítico foi disponibilizado a nível ileal em dietas a base de milho e farelo de soja contendo 2g/kg de Ca e sem adição de fitase, mostrando alguma atividade de fitase na região da mucosa ileal, porém os autores ressaltam a importância do nível de Ca nas dietas pois neste estudo quando o Ca foi elevado para 5g/kg na dieta a degradação de fitato e disponibilização de fosforo fítico caiu para menos de 30% demonstrando que o cálcio foi um importante agente na ineficiência da fitase em liberar fósforo fítico. Os dados apresentados por esses autores levantam a importância da relação de Ca adequada nas dietas de frango de corte e também nos faz refletir sobre como podemos considerar as atividades de fitases presentes na região da mucosa para se obter a melhor resposta das enzimas.

2.2.1 Histórico da utilização das fitases

As fitases foram identificadas a mais de 100 anos por (SUZUKI et al., 1907) em grãos de arroz. São enzimas conhecidas pela degradação de fitato e liberação de fósforo ligado a molécula de mio inositol.

Os primeiros estudos para tentar entender o funcionamento da enzima e explorar seu potencial foram realizados próximos à década de 1960, quando o interesse era entender a capacidade do fitato em limitar a disponibilidade Ca e P para os frangos de corte. Aproximadamente 30 anos depois, próximo à década de 1990 uma empresa holandesa desenvolveu a primeira fitase comercial oriunda de fungos *Aspergillus Niger*. Neste período já se tinha consciência sobre as fontes não renováveis de fósforo e a importância de reduzir sua inclusão nas dietas de aves e suínos. Outro grande motivo que balizou a utilização de fitases em dietas de aves foi o impacto ecológico causado pela redução do teor de P não absorvido nas excretas destes animais. No mesmo ano de lançamento da primeira enzima fitase comercial Simons et al. (1990) demonstraram que 1000FTU de fitase/kg de ração eram suficientes para reduzir a metade a excreção de P pelas aves. Do ponto de vista técnico o trabalho de Simon et al. (1990) foi o início de uma grande revolução ligada a produção animal e meio ambiente. A legislação ambiental neste quesito foi de extrema importância para tornar a fitase um ingrediente nas dietas para aves de corte, uma vez que a cada ano que passava as leis se endureciam mais em relação os níveis excessivos de P excretados pela produção animal. A partir deste cenário o que a principio seria a salvação para países onde as leis ambientais eram mais rigorosas, passou a ser uma prática global, e assim as fitases tomaram seu espaço. Antes da virada do século, Abelson (1999) estimou que a utilização de fitases movimentaria somente em vendas valores próximos a 500 milhões de dólares. Desde então houve um aumento da oferta de fitases comerciais, aumento do valor de fontes de P inorgânicos e em alguns casos/mercados a proibição do uso de farinha de carne e ossos o que fez com que as fitases e seus efeitos fossem ainda mais explorados (BEDFORD, 2003; SALLE et al., 2011).

Sabendo dos benefícios já consolidados da utilização de enzima fitase em dietas de frangos de corte quanto a disponibilidade de Ca e P, economia no custo das formulações devido menor inclusão de Ca e P de fontes inorgânica para atender as exigências destes minerais, e redução da excreção de fósforo e outros minerais

no meio ambiente, os estudos mais recentes passaram a explorar outros benefícios que a utilização de enzimas exógenas podem trazer a produção de aves. Segundo Salle et al., (2011) a capacidade das fitases vai além podendo seu uso ter efeitos extra fosfóricos, quando utilizada em doses maiores que as convencionais, trazendo efeitos como, aumento da digestibilidade ileal de proteínas/aminoácidos além aumentar a disponibilidade de energia para aves.

2.2.2 Funções extrafosfóricas da fitase

Os principais segmentos de atuação das fitases nas aves é na porção inicial do trato gastrointestinal, papo, pro-ventriculo e moela, após essas porções haverá pouca ou nenhuma degradação. Nestes pontos é extremamente importante à rápida destruição do fitato, assim as chances de remover os efeitos anti nutritivos do fitato relacionados a capacidade de queladação principalmente das moléculas IP6 e IP5 são aumentadas consequentemente disponibilizando P fítico. Segundo Luttrell (1993), quanto menor os esteres de inositol $IP6 \Rightarrow IP5 \Rightarrow IP4 \Rightarrow IP3 \Rightarrow IP2 \Rightarrow IP1$ estes apresentam menor possibilidade de se tornarem moléculas anti nutricionais. De maneira geral, a disponibilização de P fítico sempre estará ligada a quantidade de fitato presente na dieta e o grau/capacidade de hidrolise da enzima sobre este substrato. Esta concepção pode ser estendida as propriedades anti nutricionais do fitato (SALLE et al., 2011).

Pensando nos efeitos adicionais das fitases microbianas os trabalhos realizados por Officer & Batterham (1992), Salle et al., (2011) foram os primeiros a sugerir que as fitases tinham algum efeito sobre o aproveitamento das proteínas. Antes destes trabalhos já se sabia que os fitatos podem se ligar a aminoácidos e proteínas, no entanto em um teste para suínos os autores conseguiram observar melhora na digestibilidade ileal da proteína e da lisina. Mais tarde Selle et al. (2000), demonstraram a importância da hidrolise dos fitatos para reduzir a formação dos chamados novos complexos fitato-aminoácidos e fitato-proteínas.

O efeito das fitases em melhorar a utilização do fósforo fítico e a digestibilidade da proteína é dependente de vários fatores, entre eles, a variação e tipo dos ingredientes da dieta e idade das aves (SELLE et al., 2000; RUTHERFURD et al., 2002), podem estar relacionados com as diferenças nas concentrações de fitases endógenas e local do fitato nas sementes, além das moléculas às quais os

fitatos podem estar ligados (WEREMKO et al., 2001; ZIMMERMANN et al., 2002).

O uso das fitases e seus efeitos sobre a digestibilidade de proteína e aminoácidos podem ser confirmados quando em sua presença é possível observar redução na excreção endógena, isso porque o fitato pode aumentar a perda endógena por interação com enzimas e mucinas aumentando assim a excreção endógena de aminoácidos e minerais (COWIESON et al., 2004). Uma explicação levantada por Clarke & Wiseman (2003), é a possibilidade de haver mecanismos de respostas quando as secreções gastrintestinais são aumentadas e as aves detectam uma diminuição da atividade enzimática. Cowieson et al. (2004) sugerem que a excreção de proteína e aminoácidos esta diretamente ligada ao poder de quelatação do fitato, observado no estudo de Maenz et al. (1999) indicando que na presença de IP6, que é o ester de inositol com maior poder quelatante, este se liga a vários íons e minerais entre eles Na, Fe, S e Ca, onde a excreção de enxofre em particular esta ligada aos aminoácidos sufurados como metionina e cistina.

Quando se mede perda endógena de aminoácidos nas excretas de aves é necessário tomar alguns cuidados, pois se não quantificarmos todos os aminoácidos da excreta pode haver um erro de interpretação uma vez que alguns aminoácidos como glicina podem aparecer da conversão do ácido úrico durante a hidrólise ácida. Como a mensuração de todos os aminoácidos tem um custo muito elevado é possível utilizar a glicina, neste caso, como um aminoácido correlacionado com a perda de compostos que contenham nitrogênio não proteico, hipótese esta que se justifica com aumento da produção de mucina (COWIESON et al., 2004).

Quando se tem a presença de IP6 no trato gastrintestinal existe um aumento da produção de mucina como uma forma de proteção, aumentando as perdas endógenas e gerando um custo nutricional extremamente alto para aves (NYACHOTI et al., 1997). Outra forma de se mensurar a perda endógena pelas aves é por meio do indicador de secreção de ácido siálico, descrito por Jourdian et al. (1971) como sendo um composto de uma família de 40 ácidos neuramínicos. Estes compostos são oligossacarídeos ligados a glicoproteínas, mucinas e certos polímeros microbianos. Glicoproteínas contendo ácido siálico estão presente na maioria das membranas plasmáticas dos vertebrados segundo (NAKANO et al., 1994; PUENTE et al., 1994) Sempre que houver algum tipo de acometimento nas células como senescência, infecção bacteriana, condições patológicas desfavoráveis e fragilidade osmótica, essas produzirão ácido siálico. O ácido siálico esta presente

nas mucinas, que são responsáveis pela lubrificação dos epitélios, proteção das mucosas e separação entre toxinas e nutrientes (FORSTNER & FORSTNER, 1994). As mucinas podem ser constituídas por serina, treonina, prolina e cisteína. Os primeiros estudos sobre o efeito da presença de fitato e utilização de energia em frangos de corte foram realizados no início da década de 70 por (ROJAS & SCOTT, 1969; MILES & NELSON, 1974) onde os autores observaram que a presença de fitato tinha um efeito negativo sobre a utilização de energia em frangos de corte. Os estudos subsequentes observaram que a suplementação de dietas com fitase aumentaram a energia metabolizável aparente em média 2,8%, representando aproximadamente 86 kcal/kg (DRIVER et al., 2006; KOCHER et al., 2003; SHIRLEY & EDWARDS, 2003).

Alguns autores como (SELLE et al., 2001, UMMADI et al., 1995a,b), processando ingredientes e dietas de diferentes maneiras observaram que dependendo da agressividade do processamento térmico das dietas, as fitases podem apresentar respostas pouco eficientes sobre o fitato dos ingredientes ou como no trabalho de Edwards et al. (1999) que ao comparar o processo de extrusão x peletização em dietas a base de milho e farelo de soja observaram uma melhor resposta quando as dietas foram peletizadas.

A melhora na digestibilidade da energia pode ser consequência do somatório melhoras na digestibilidade de outros componentes como gordura, proteína e amido. Um exemplo é o trabalho realizado por Camden et al. (2001) que ao comparar a utilização de fitases fungicas x bacterianas em dietas de frangos de corte, a base de milho e farelo de soja, observaram melhora na energia metabolizável aparente em 62Kcal/kg.

Existem suposições quanto a interação do fitato com lipídeos do milho, as lipofitinas que são complexos de Ca e Mg ligados ao fitato, lipídeos e peptídeos. Esta teoria fala sobre a formação de sabões metálicos no lúmen do trato gastrointestinal limitando a utilização da energia derivada de lipídeos, principalmente das gorduras saturadas (Leeson, 1993), aumentando excreção de gordura. Dessa maneira, é possível que o fitato possa fazer ligações com amido por pontes de hidrogênio e também por proteínas associadas ao amido (RICKARD & THOMPSON, 1997) teoricamente existiria uma oportunidade para atuação das fitases, liberando proteínas e amido ligados à molécula de fitato o que ajudaria a aumentar a disponibilidade destes nutrientes para serem digeridos.

2.3 MIO INOSITOL

O mio-inositol (MI) é o produto final da hidrólise total do fitato, liberando 6 fosfatos e 1 anel de mio-inositol. Este produto, o inositol, tem gerado interesse nas pesquisas recentes sendo mais um dos efeitos extra fosfóricos que a fitase pode trazer ao desempenho de frangos de corte. O MI é classificado como um álcool de açúcar cíclico semelhante a glicose e tem sido observado bastante interesse na nutrição de humanos, pois esta molécula apresenta propriedades semelhantes as funções metabólicas da insulina (estimula GLUT4 – Transportador de glicose em mamíferos) podendo estimular o transporte de glicose. Para suprir as necessidades de MI, os organismos podem suprir suas necessidades via biossíntese celular e via dietas. Em dietas o MI pode estar livre ou na forma de mio inositol 1,2,3,4,5,6 hexafofato, sais de fitato e fosfolipídeos (HUBER, 2016).

Segundo Holub (1986), fitases, fosfatases, fosfolipases pancreáticas e fitases microbianas associadas a borda em escova podem degradar parte do MI que forma o fitato, tornando o MI livre. Alguns estudos realizados em humanos apresentam absorção de praticamente 100% do MI livre no intestino (CROZE & SOULAGE, 2013). A literatura cita que o MI é transportado por uma via secundária sódio dependente através das membranas apicais dos enterócitos. (AOUAMEUR et al., 2007; SCALERA et al., 1991) demonstraram em seus estudos que é necessário 2 moléculas de sódio para absorção de 1 de MI. Segundo Huber (2016) a alta capacidade do intestino em absorver MI indica a importância da molécula para o metabolismo intermediário. Também foi observado em estudos (CROZE & SOULAGE, 2013) utilizando MI radioativo aplicado em ratos uma imediata absorção em alguns tecidos mais do que outros, sendo mais absorvido pelo cérebro, tireoide, fígado, e trato reprodutivo e menos nos músculos e tecido adiposo, ou seja, variando a absorção entre os tecidos. Nestes tecidos com maior absorção o MI é capaz de determinar a síntese de glucose, e na presença do mio inositol a D-glucose é convertida em glucose 6 fosfato pela hexoquinase transformando o MI 1P e na sequência desfosforilando novamente o MI pela inositol monofosfatase (CROZE & SOULAGE, 2013). Outra função do MI descrita por Croze & Soulage (2013), em alguns tecidos como cérebro e fígado seria osmótica, que reduziriam o estresses nestes tecidos.

2.3.1 Uso do mio inositol para frangos de corte

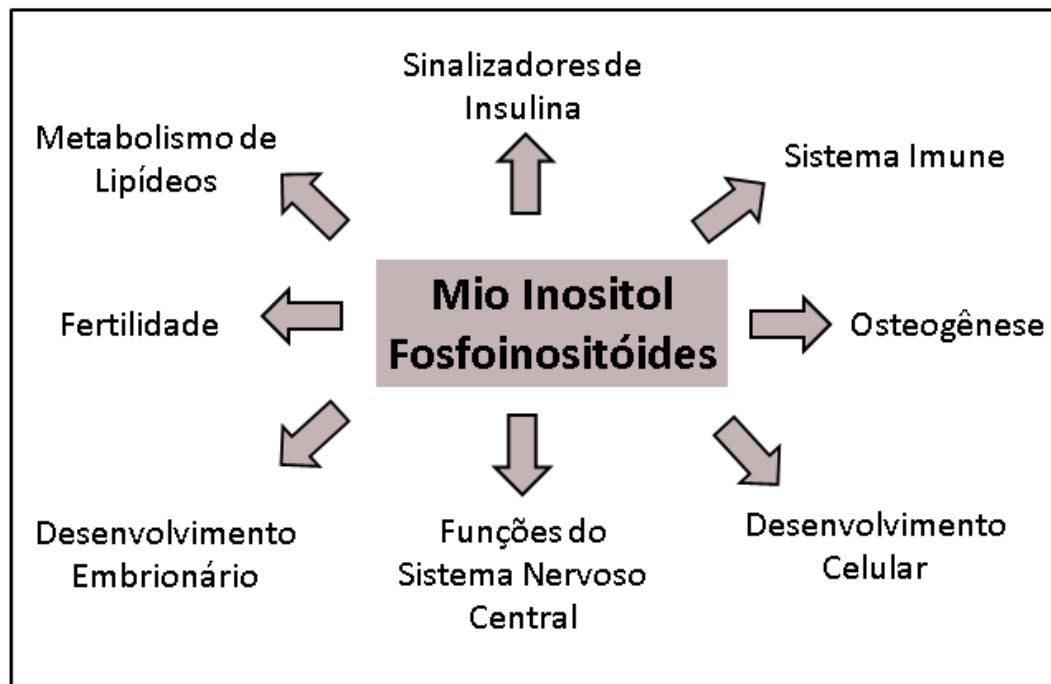
As pesquisas se encaminham para a diferenciação do papel do GLUT4 entre mamíferos e aves. Pesquisas recentes observaram que frangos de corte, que até então os indicavam como espécie carente de GLUT4, apresentavam respostas a insulina, desde então tem sido observado respostas positivas no desempenho de frangos de corte quando administrados mio-inositol.

Sabe-se que a concentração de MI no plasma de frangos de corte é em torno de 30mg/l e a adição de fitase em super dose na dieta de frangos podem aumentar a concentração de MI no plasma e melhorar o desempenho das aves. Essa possível melhora pode estar relacionada com a capacidade de hidrólise da enzima e favorecimentos das fitases endógenas da borda em escova que em altas contrações podem liberar o fosfato presente no carbono axial da molécula de fitato na posição C2, gerando assim o mio-inositol livre.

Mesmo com estas constatações de melhora de desempenho de frangos de corte (Figura 2) é difícil explicar os efeitos do mio-inositol, pois o papel de modulador de GLUT4 é mais lógico em mamíferos (TOKUSHIMA et al., 2005; SWEAZEA & BRAUN, 2006). Acredita-se que as aves tenham transportadores alternativos de glicose, e como a fitase aumenta a presença de mio-inositol no plasma das aves, pode ser que o MI estimule vias alternativas a insulina IGF-1 como a fosfatilinositol-3-quinase, proteína quinase B e mTor que são responsáveis pelo acréscimo de proteína no organismo. Talvez essas sejam as possíveis respostas aos benefícios extra fosfóricos decorrentes das super doses de fitase (COWIESON et al., 2015).

Além de ser um modulador do transporte de glicose, podemos verificar outras atividades em que o mio-inositol esta envolvido, conforme figura 2.

FIGURA 2 - AÇÕES DO MIO INOSITOL NO ORGANISMO



Fonte: Adaptado de Huber (2016).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELSON, P.H. A potential phosphate crisis. **Science**, v. 283, 1.5410, p. 2015, 1999.

AOUAMEUR, R. et al. SMIT2 mediates all myo-inositol uptake in apical membranes of rat small intestine. **American Journal of Physiology**, Gastrointestinal and Liver Physiology 293:G1300-G1307, 2007.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis, 17th ed. Official Method. Phytase Activity in Feed. Washington DC, USA, 2000.

CAMDEN, B.J. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize–soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v.73, p. 289–297, 2001.

CLARKE, E.; WISEMAN, J. Effect of varying trypsin inhibitor activity of full fat soya on nutritional value for broiler chicks. In: ACAMOVIC, T., STEWART, C.S. & PENNYCOTT, T.W. (Eds) Poisonous Plants and Related Toxins (Wallingford, CAB International), 2003.

COWIESON, A. J.; AURELI, R.; GUGGENBUHL, P.; FRU-NJI, F. Possible involvement of myo-inositol in the physiological response of broilers to high doses of microbial phytase. **Animal Production Science**, v. 55, n. 6, p. 710-719, 2015, Doi: <https://doi.org/10.1071/AN14044>

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101–108, 2004.

COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Supplementation of diets containing pea meal with exogenous enzymes: effects on weight gain, feed conversion, nutrient digestibility and gross morphology of the gastrointestinal tract of growing broiler chicks. **British Poultry Science**, v.44, n. 3, p. 427–437, 2003.

CROZE, M.L.; SOULAGE, C.O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. **Biochimie**, v.95, p.1811-1827, 2013.

DAYYANI, N.; ABADI, M B B; FARHANI, A. A. A. Phytate and phytase in poultry nutrition. **International journal of Advanced Biological and Biomedical Research**. v.1, l. 11, p.1403-1408, 2013.

DRIVER, J.P. et al. Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficiency in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 85, p.1406–1417, 2005.

ECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 47, p.19–29, 1994.

FORSTNER, J.F.; FORSTNER, G.G. Gastrointestinal mucus, In: JOHNSON, L.R. (Ed) Physiology of the Gastrointestinal Tract, p. 1255—1283 (New York, Raven

Press), 1994.

GREINER, R et al. **Enzymes in farm animal nutrition**. Cap 5. Phytases: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed. p 96, 2011.

GREINER, R. Phytate-degrading enzymes: regulation of synthesis in microorganisms and plants. **In:** Turner, B.L., Richardson, A.E. and Mullaney, E.J. (eds) *Inositol Phosphates: Linking Agriculture and Environment*. CAB International, Wallingford, UK, p. 78–96, 2006.

HARTIG, T. Uber das Klebermehl. *Botanische Z.* 13, 881–885, 1855.

HEUBNER, W.; STADLER, H. Determination of phytin by titration. **Biochemische Zeitschrift**, v. 64, p. 422, 1914.

HOLUB, B.J. Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. **Annual Reviews of Nutrition**, v. 6, p.563-597, 1986.

HUBER, K; Cellular myo-inositol metabolism in: C.L,WALK; I,KUHN; H.H, STEIN; M.T,KIDD; M. RODEHUTSCORD **Phytate destruction, Consequences for precision animal nutrition**. First Published Wageningen Academic Publisher, NL, 2016. Cap 4, p.53-59.

JOURDIAN, G.W.; DEAN,L.; ROSEMAN, S. A periodate- resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 246, p. 430–435, 1971.

KASIM, A.B., EDWARDS, H.M.. The analysis for inositol phosphate forms in feed ingredients. **Journal Science Food Agriculture**, v.76, p. 1–9, 1998.

KASIM, A.B.; EDWARDS, H.M. Effect of sources of maize and maize particle size on the utilization of phytate phosphorus in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, p. 15–26, 2000.

KERR, M.J.; CLASSEN, H.L.; NEWKIRK, R.W. The effects of gastrointestinal tract micro-flora and dietary phytase on inositol hexaphosphate hydrolysis in the chicken. **Poultry Science**, v. 79, 2000.

KOCHER, A. et al. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal based diets in broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, p. 275–283, 2003.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28(6), p. 1313–1315, 1980. Doi:10.1021/jf60232a049

LUTTRELL, B.M. The biological relevance of the binding of calcium ions by inositol phosphates. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, p.1521–1524, 1993.

MAENZ, D. D. et al. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a lurry of canola meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, p.177- 192,

1999.

MAENZ, D. D.; CLASSEN, H. L. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. **Poultry Science**, v. 77, p. 557- 563, 1998.

MILES, R.D.; NELSON, T.S. The effect of enzymatic hydrolysis of phytate on the available energy content of feed ingredients for chickens and rats. **Poultry Science**, v. 53, p. 1714–1717, 1974.

MULLANEY, E.J.; ULLAH, A.H.J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 312, p. 179–184, 2003.

NAKANO, K. et al. Sialic acid contents in chicken eggs and tissues. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 74, p. 601—606, 1994.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

OBERLEAS, D. Phytates. In: Toxicants occurring naturally in foods. National Academy Press, Washington, DC, p. 363-371, 1973.

OFFICER, D.I. AND BATTERHAM, E.S. Enzyme supplementation of Linola? meal for grower pigs. **Proceedings, Australian Society of Animal Production**, v.19, p. 288, 1992.

ONYANGO, E. M.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 84, p. 248–255, 2005.

PUENTE, R. et al. Changes in ganglioside and sialic acid contents of goat milk during lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 39—44, 1994.

ROJAS, S.W.; SCOTT, M.L. Factors affecting the nutritive value of cottonseed meal as a protein source in chick diets. **Poultry Science**, v. 48, p. 819–835, 1996.

RUTHERFURD, S.M.; CHUNG, T.K.; MOUGHAN, P.J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **British Poultry Science**, v. 43, p. 598–606, 2002.

SALANOVA, M. S. The use of enzymes to improve the nutritional value of corn-soy diets for poultry and swine. In.: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE NUTRIÇÃO DE SUÍNOS E AVES. Campinas, 1996. Proceedings...Campinas:CBNA, p.-13.

SANDBERG, A.S., CARLSSON, N.G., SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. *Journal of Food Science*, v.54, n.1, p.159-161, 186, 1989

SCALERA, V.; NATUZZI, D.; PREZIOSO, G. Myo-inositol transport in rat intestinal brush border membrane vesicles, and its inhibition by D-glucose. **Biochimica and Biophysica Acta**, v.1062, p.187-192, 1991.

SELLE, P. H. et al. **Enzymes in farm animal nutrition**. Cap 6. Phytate and Phytase P.H. Selle, V. Ravindran, A.J. Cowieson and M.R. Bedford. p. 160, 2011.

SHIRLEY, R.B.; EDWARDS JR. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, p. 671-680, 2003.

SIMON, O.; IGBASAN, F. In vitro properties of phytases from various microbial origins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 813–822, 2002.

SIMONS, P.C.M. et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 525–540, 1990.

SOTO-SALANOVA, M.F. et al. High phytase levels increase mineral deposition in egg yolks

SUZUKI, U., YOSHIMURA, K., TAKAISHI, M. Uber ein Enzym “Phytase” das Anhydro-oxy-methylen- diphosphosaure spaltet. **College of Agriculture Tokyo Imperial University**, v. 7, p. 503–505, 1907.

SWICK, R.A.; IVEY, F.J. Phytase: the value of improving phosphorus retention. **Feed Manage**, v. 43, p. 8–17, 1992.

TAMIN, N. M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytase phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83 (8), p. 1358-1367, 2004.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 1, p.1-22, 1991.

WEREMKO, D. et al. Enzymatic efficiency of plant and microbial phytase in cereal-rapeseed diets for growing pigs. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.10, p.649-660, 2001.

WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v. 42, p. 263–303, 1996.

ZIMMERMANN, B. et al. Determination of phytase activity in cereal grains by direct incubation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 86, p. 347–352, 2002.

CAPÍTULO II - EFEITO DA INCLUSÃO DE ALTAS DOSES DE FITASE EM DIETAS PARA FRANGOS DE CORTE CONTENDO BAIXOS NÍVEIS DE FITATO

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da inclusão de diferentes doses de fitase em dietas de frangos de corte com baixos níveis de fitato sobre desempenho, rendimento de carcaça digestibilidade ileal e composição óssea. Foram utilizados 4 tratamentos: níveis preconizados (NP) de cálcio ($Ca = 0,770$) e fósforo disponível ($P_d = 0,366$), níveis reduzidos (NR) $Ca (-0,192)$ e $P_d (-0,175)$, NR + 750FTU/kg e NR + 1500FTU/kg. Foram utilizadas 936 aves em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento composto por 9 repetições de 26 aves recebendo ração na forma farelada e água a vontade. Foi avaliado o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA). Aos 21 dias de idade 4 aves por repetição foram eutanasiadas para coleta do conteúdo ileal e posterior análise e cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB). De uma ave de cada repetição foi retirada a tíbia direita para quantificação óssea do resíduo mineral (RM) e teor de Ca e P. Aos 42 dias de idade uma ave por repetição foi abatida para mensuração do rendimento de carcaça e cortes. Aos 21 e 42 dias foi observado melhor GP e CA ($P < 0,01$) no tratamento NP comparado aos demais tratamentos. O rendimento de carcaça foi maior no tratamentos NP, NR+750 e NR+1500 ao comparar com o NR ($P < 0,01$). Não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) em nenhuma das variáveis de digestibilidade. Foi observado RM e %P ($P < 0,01$) menor apenas no tratamento NR sem adição de fitase. Dessa maneira, conclui-se que a adição de 750 ou 1500 FTUs de fitase em dietas com baixos níveis de fitato foram capazes de manter iguais ao tratamento controle a digestibilidade das frações avaliadas e a qualidade óssea, porém não foram capazes de manter o mesmo desempenho que o tratamento NP em dietas com baixo nível de fitato.

Palavras-chaves – nutrição. Desempenho. Digestibilidade. cinzas ósseas

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of the inclusion of different doses of phytase in diets of broilers with low phytate levels on performance, carcass yield, ileal digestibility and bone composition. Four treatments were used: normal levels (NL) of calcium ($\text{Ca} = 0.770$) and available phosphorus ($\text{Pd} = 0.366$), reduced levels (RL) $\text{Ca} (-0,192)$ and $\text{Pd} (-0,175)$, $\text{NR} + 750\text{FTU} / \text{kg}$ and $\text{NR} + 1500\text{FTU} / \text{kg}$. A total of 936 birds were used in a completely randomized design, with each treatment consisting of 9 replicates of 26 birds receiving feed in the form of meal and water at will. Feed intake (FI), weight gain (WG) and feed conversion ratio (FCR) were evaluated. At the age of 21 days, 4 birds per replicate were euthanized for collection of ileal content and subsequent analysis and calculation of the apparent digestibility coefficient (ADC) of dry matter (DM), crude protein (CP) and crude energy (CE). From one bird of each repetition the right tibia was removed for bone quantification of mineral residue (MR) and Ca and P content. At 42 days of age one bird per repetition was slaughtered to measure the carcass yield and cuts. At 21 and 42 days, better WG and FCR ($P < 0.01$) were observed in the NL treatment compared to the other treatments. Carcass yield was higher in NL, RL + 750 and RL + 1500 treatments when compared to RL ($P < 0.01$). No statistical difference ($P > 0.05$) was observed in any of the digestibility variables. Minor MR and % P ($P < 0.01$) were observed only in RL treatment without addition of phytase. In this way, it was concluded that the addition of 750 or 1500 FTUs of phytase in diets with low phytate levels were able to keep the fracture digestibility and bone quality equal to the control treatment, but were not able to maintain the same performance than NL treatment in diets with low phytate level.

Key-words- nutrition. Performance. Digestibility. bone ash.

1 INTRODUÇÃO

As fitases ou mioinositol (1,2,3,4,5,6) hexafosfato fosfohidrolase são enzimas capazes de desfosforilar/hidrolisar o fitato, que é o fosfato de inositol mais abundante na natureza, sendo exploradas há quase 40 anos para extrair diferentes benefícios (GREINER E KONIETZNY, 2010). Segundo Konietzny e Greiner (2002), os fitatos, são naturalmente produzidos pelas plantas durante o processo de maturação dos grãos como a forma mais eficaz de armazenamento do fósforo (P), mineral essencial para a germinação (SILVA e SILVA, 1999). A utilização das fitases exógenas já está bem estabelecida na nutrição de aves, uma vez que o fósforo fítico representa aproximadamente 70% do fósforo dos cereais e leguminosas, base da dieta das aves, sendo então suplementada a fitase uma vez que esses animais não conseguem sintetizar esta enzima em quantidades suficientes. A utilização de fitases têm sido relatada em dietas de frango de corte desde a década de 1930 com melhora na utilização do P e na mineralização óssea (STEENBOCK et al., 1939). Na década de 1990, as fitases foram relacionadas com a diminuição da excreção deste mineral no meio ambiente, estratégia esta, que em conjunto com o alto preço das fontes de fósforo, fez com que a fitase tomasse força no mercado de enzimas. Além disso, uma terceira frente veio complementar esta ideia: a superdosagem de fitase. A ideia é não tratar a fitase como uma enzima que simplesmente libera fósforo fítico e sim todos os elementos (macro e micro minerais e proteínas/aminoácidos) complexadas nesta molécula, além de diminuir os efeitos anti-nutricionais causados pela presença do fitato uma vez que segundo Cowieson et al. (2008), o fitato é um fator anti nutritivo capaz de interferir na absorção e digestão de minerais e nutrientes, piorando o desempenho das aves.

Dietas compostas por farinhas de origem animal, ingredientes baratos e que reduzem o nível de fitato nas rações de frango de corte, podem ter seus custos reduzidos em média 5% comparados a dietas 100% vegetais, uma vez que, podem contribuir com alguns nutrientes mais disponíveis e digestíveis tais como cálcio, fósforo e aminoácidos. A utilização de fitase exógena tornou-se indispensável com a restrição do uso de ingredientes de origem animal para alguns mercados, tornando ainda mais necessária a liberação dos nutrientes ligados ao fitato. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a inclusão de diferentes doses de fitase em dietas para frangos de corte contendo baixos níveis de fitato sobre desempenho dos

animais (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar), rendimento de carcaça, digestibilidade ileal e composição óssea.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

2.1 ANIMAIS E LOCAL EXPERIMENTAL

Foram utilizados 936 frangos de corte machos da linhagem Cobb500®, alojados de 1 a 42 dias de idade em galpão de alvenaria. As unidades experimentais foram distribuídas em boxes medindo 1,65 x 1,25 (c x l) com 26 animais cada, totalizando 2,06 m² de área com cama de maravalha de pinus. O controle da temperatura ambiente durante o período experimental seguiu as recomendações preconizadas pela linhagem. A ração e água foram fornecidas à vontade em comedouros tubulares e bebedouros tipo Nipple durante todo o período experimental.

2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, sendo composto por quatro tratamentos e nove repetições. Os tratamentos foram: níveis preconizados (NP) de Ca (0,770) e Pd (0,366), níveis reduzidos (NR) de Ca (-0,192) e Pd (-0,175) e NR com dois níveis de inclusão de fitase (750FTU/Kg ou 1500FTU/Kg) derivada de *Escherichia Coli* modificada (ECP). Durante o período experimental três dietas foram formuladas (Tabela 1) divididas por fases: inicial (1-21 dias), crescimento (22-35 dias) e final (36-42 dias). As dietas seguiram as recomendações das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011) para frangos de corte de desempenho superior.

A dieta inicial de 1 a 21 dias foi a dieta utilizada para o ensaio de digestibilidade e continha 2% de celite, utilizado como indicador interno indigestível para os cálculos de digestibilidade.

Cada dieta foi fabricada em duas etapas: a pré-mistura com todos os micro ingredientes (aminoácidos e premix vitamínico e mineral) feita em misturador duplo cone de 60 kg e a incorporação desta pré-mistura aos macro ingredientes em misturador vertical com capacidade de 500 Kg. Todas as dietas foram fornecidas na

forma farelada e com DGM médio de 530 μm .

2.3 DESEMPENHO

As aves a ração fornecida e sobras foram pesadas no dia do alojamento e aos 21, 35 e 42 dias de idade. A mortalidade foi verificada diariamente com o registro do peso da ave. Com base nessas informações foi calculado o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CA) conforme: $CA = CR / (GP + \text{peso mortalidade})$.

2.4 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE ILEAL E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS

Todas as aves foram alimentadas com a dieta inicial (Tabela 1) até o 21º dia de idade a fim de determinar a digestibilidade da proteína e da energia.

Para coleta de conteúdo ileal, 4 aves por repetição foram eutanasiadas por deslocamento cervical, evisceradas e o conteúdo ileal coletado. A porção ileal foi definida como sendo o segmento entre 4 cm depois do divertículo de Meckel e 4 cm antes da junção íleo-ceco-cólica. O conteúdo ileal foi removido manualmente por compressão e colocado dentro de potes plásticos identificados e estéreis. Após a coleta, todas as amostras foram mantidas em freezer a -5°C até serem processadas.

Para análise de características ósseas, foi utilizada uma ave por repetição para coleta da tíbia da perna direita.

2.5 RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES

Aos 42 dias de idade, uma ave de cada repetição com peso vivo semelhante à média da repetição $\pm 5\%$ foi selecionada para avaliar o rendimento de carcaça e cortes, totalizando nove aves de cada tratamento. As aves foram identificadas com um lacre plástico numerado em uma das pernas. Após o abate, remoção das penas, cabeça, pés e vísceras, as carcaças foram lavadas e resfriadas em chiller durante 60 minutos a 2°C . As aves foram transferidas para a sala de cortes, na qual os cortes foram processados (peito com pele e osso e coxa + sobrecoxa). Pela relação entre o peso vivo de cada ave e o peso de sua carcaça, foi determinado o rendimento de carcaça, e pela relação entre o peso da carcaça e os cortes foram determinados os rendimentos de coxas + sobrecoxas e peito com pele e com osso.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS E NÍVEIS NUTRICIONAIS

(continua)

Ingredientes (%)	Inicial 1 a 21 dias			Crescimento 22 a 34 dias			Final 35 a 42 dias		
	NP	NR	NR+750/ 1500FTU	NP	NR	NR+750/ 1500FTU	NP	NR	NR+750/ 1500FTU
Milho	62,61	67,72	67,70	69,61	68,18	68,16	69,18	76,05	76,03
Óleo de soja	2,04	0,31	0,30	0,57	0,00	0,00	2,72	0,68	0,68
Farelo de soja	22,40	20,02	20,02	21,34	24,57	24,54	19,00	15,07	15,07
48%									
Far. Hemácia	7,00	7,00	7,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Calcário	1,31	1,23	1,23	1,19	1,08	1,08	1,06	0,98	0,98
Fosfato	1,56	0,74	0,74	1,184	0,326	0,326	1,009	0,209	0,209
Monocálcico									
Sal	0,41	0,30	0,30	0,395	0,293	0,293	0,41	0,307	0,307
Quantum Blue	0,000	0,000	0,015/0,030	0,000	0,000	0,015/0,030	0,000	0,000	0,015/0,030
Econase XT	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix ¹	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
Lisina	0,000	0,044	0,044	0,124	0,000	0,000	0,031	0,126	0,126
Metionina	0,350	0,320	0,320	0,290	0,240	0,240	0,270	0,260	0,260
Treonina	0,016	0,002	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,076	0,076
Celite	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Níveis de Garantia Calculados									
Energia (Kcal/kg)	3100	3100	3100	3150	3150	3150	3200	3200	3200
Proteína Bruta (%)	22,19	21,39	21,88	20,58	21,88	22,37	19,17	17,91	18,40
Cálcio (%)	0,880	0,688	0,880	0,760	0,568	0,760	0,670	0,478	0,670
Fósforo disp (%)	0,435	0,260	0,435	0,354	0,179	0,354	0,310	0,135	0,310
Fósforo fítico (%)	0,204	0,205	0,205	0,216	0,225	0,225	0,202	0,199	0,199
Sódio (%)	0,220	0,180	0,220	0,205	0,165	0,205	0,210	0,170	0,210
Fitato ² (%)	0,540	0,400	0,360	0,540	0,400	0,360	0,540	0,400	0,360
Fitase (FTU)	<150	<150	878/1861	<150	<150	878/1861	<150	<150	878/1861
Lisina Dig (%)	1,270	1,250	1,270	1,200	1,188	1,208	1,060	1,040	1,060
Metionina Dig (%)	0,652	0,616	0,620	0,575	0,546	0,550	0,538	0,516	0,520
Met+Cys Dig (%)	0,910	0,866	0,910	0,830	0,819	0,863	0,755	0,738	0,782
Treonina Dig (%)	0,820	0,781	0,820	0,735	0,785	0,824	0,690	0,651	0,690
Triptofano Dig (%)	0,256	0,243	0,266	0,229	0,247	0,270	0,213	0,192	0,215
Valina Dig (%)	1,182	1,149	1,176	1,043	1,105	1,132	0,986	0,927	0,954

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais e níveis nutricionais.

(Conclusão)

¹Suplementação por kg da dieta: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; Tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg; iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg

² Fitato mensurado por método colorimétrico

2.6 ANÁLISES QUÍMICAS

O conteúdo ileal foi descongelado, homogeneizado e seco a 55°C até peso constante e moído para que atingisse tamanho de partícula de 1 mm. As amostras do conteúdo ileal e da dieta experimental foram secas em estufa a 105°C para determinar a matéria seca (AOAC, 1995), a quantificação do conteúdo de proteína bruta (PB) da dieta e do conteúdo ileal foi mensurada a partir do método (AOAC, 1995), e para Energia Bruta (EB) as amostras foram analisadas em bomba calorimétrica (Modelo 1261, Parr Instrument Co., Moline, IL). O conteúdo de cinza insolúvel da dieta e do conteúdo ileal foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Scott e Boldaji (1997).

A digestibilidade ileal das frações da dieta foram realizados, com o uso de indicador externo CIA, utilizando o fator de indigestibilidade (FI): $FI = CIA_{dieta} / CIA_{excreta}$. O coeficiente de digestibilidade ileal (Cdi) dos componente MS, PB e energia foi calculada segundo a equação: $Cdi \text{ do componente} = (\text{Componente na dieta}) - (\text{Componente no conteúdo ileal} \times FI) / \text{Componente na dieta}$.

A quantificação de fitato foi feita pelo método colorimétrico, derivado do método descrito por Heubner e Standler (1914) que se baseia na reação entre íon Férrico Fe^{3+} e o ácido sulfossalicílico conhecido como reagente de Wade – RW e correções da amostra purificada conforme metodologia descrita por Latta e Eskin (1980).

Para quantificação de cinzas totais, cálcio e fósforo das tíbias, estas foram descarnadas manualmente, limpas e desengorduras submersas em éter por (3 dias). Após este período os ossos foram secos em estufa a 105°C e pesados em balança de precisão de 0,0001 g. Depois de pesadas as tíbias foram colocadas em mufla a 600°C e moídos até atingirem 1mm de tamanho de partícula para posterior análises dos teores de resíduo mineral (RM), cálcio (Ca) e fósforo (P) segundo a metodologia da AOAC (1995).

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a análise estatística de desempenho (GP, CR e CA), cada box foi considerado uma unidade experimental. Já para as variáveis de características ósseas, rendimento de carcaça e cortes, a unidade experimental era constituída de apenas um animal. Para o ensaio de digestibilidade foi feito um pool com o conteúdo ileal de 4 aves, que foi considerado como uma repetição.

Os dados foram submetidos ao teste de Bartlett para verificação da homogeneidade das variâncias, seguido por teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resíduos. Posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 1% e 5% de significância.

3 RESULTADOS

Aos 21, 35 e 42 dias de idade o tratamento NP apresentou melhor GP e CA (Tabela 2; $P < 0,001$), exceto CA aos 35 dias, no qual não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$). Aos 21 dias o tratamento NP apresentou média de GP de 172,75 g maior que o tratamento NR e CA 200 g melhor que os demais tratamentos. A diferença de GP foi mantida até os 42 dias em que os animais do tratamento NP tiveram um ganho de peso 250 g maior comparado aos tratamentos com adição de fitase e de mais de 430 g do tratamento NR sem adição de enzima fitase. Os tratamentos NR+750 e NR+1500 se igualaram estatisticamente ($P < 0,01$) ao tratamento NP em CR somente aos 21 e 35 dias e foram maiores em GP durante todo o período experimental. O CR dos tratamentos com níveis reduzidos se mostrou superior quando adicionado fitase aos 42 dias de idade, comparado ao tratamento NR ($P < 0,001$). Para CA aos 21 e 42 dias de idade os tratamentos NR e NR mais adição de fitase foram iguais estatisticamente ($P > 0,05$).

TABELA 2 - CONSUMO DE RAÇÃO (CR), GANHO DE PESO (GP) E CONVERSÃO ALIMENTAR (CA) DE FRANGOS DE CORTE 1 A 42 SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE

Tratamentos	1 a 21 dias			1 a 35 dias			1 a 42 dias		
	CR	GP	CA	CR	GP	CA	CR	GP	CA
NP	1077 a	705 a	1,51 b	3104 a	1725 a	1,79	4285 a	2325 a	1,84 b
NR	921 c	533 c	1,72 a	2711 c	1471 c	1,85	3701 c	1893 c	1,95 a
NR+750 FTU/Kg	1036 ab	579 b	1,78 a	2954 b	1596 b	1,85	4027 b	2074 b	1,94 a
NR+1500 FTU/Kg	995 bc	582 b	1,70 a	2917 b	1578 b	1,83	3961 b	2041 b	1,95 a
P-value	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,163	<0,001	<0,001	<0,001
CV%	5,89	11,22	7,89	5,81	6,52	3,09	5,97	8,31	3,76

NP - Níveis preconizados de cálcio (Ca = 0,770) e fósforo disponível (P_d = 0,366)

NR - Níveis reduzidos Ca (- 0,192) e P_d (-0,175)

CV – Coeficiente de Variação

CR – Consumo de Ração (g)

GP – Ganho de peso (g)

CA – Conversão Alimentar (g:g)

Médias diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância com diferentes na coluna ($P < 0,05$)

Com relação ao rendimento de carcaça foram observadas diferenças (Tabela 3; $P < 0,05$), 78,87% x 76,79% entre o tratamento NP e tratamento NR com diferença de 2,08% menor. Quando utilizamos níveis reduzidos, porém com adição de enzima fitase não houve diferença independente da dose de fitase. Para os rendimentos de peito e coxa e sobre coxa não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($P > 0,05$).

TABELA 3 - RENDIMENTO DE CARCAÇA, PEITO E COXA E SOBRECOXA DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE

Tratamentos	% Carcaça	% Peito	% Coxa e sobrecoxa
NP	78,87 a	32,74	29,92
NR	76,79 b	32,94	29,42
NR+750 FTU/Kg	78,10 ab	32,40	29,95
NR+1500 FTU/Kg	78,13 ab	33,58	29,25
P-Value	0,0189	0,6819	0,8549
CV%	1,89	6,11	6,70

NC - Níveis preconizados de cálcio ($Ca = 0,770$) e fósforo disponível ($P_d = 0,366$)

NR - Níveis reduzidos Ca ($- 0,192$) e P_d ($-0,175$)

CV – Coeficiente de Variação

Médias diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância com diferentes na coluna ($P < 0,05$)

Não foram observadas diferenças para a digestibilidade de nenhuma das frações da dieta (Tabela 4) ($P > 0,05$) para CDMS, CDAPB e CDAEB.

TABELA 4 - COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE ILEAL DA MATÉRIA SECA (CDMS), APARENTE DA PROTEÍNA BRUTA (CDAPB), APARENTE DA ENERGIA (CDAEB) AOS 21 DIAS DE IDADE DE FRANGOS E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE

Tratamentos	CDMS (%)	CDAPB (%)	CDAEB (%)
NP	72,76	83,47	77,20
NR	74,82	83,73	78,87
NR+750 FTU/Kg	73,76	83,76	77,48
NR+1500 FTU/Kg	72,90	84,06	76,99
P-Value	0,2291	0,8720	0,2699
CV%	3,09	1,64	2,75

NP - Níveis preconizados de cálcio ($Ca = 0,770$) e fósforo disponível ($P_d = 0,366$)

NR - Níveis reduzidos Ca ($- 0,192$) e P_d ($-0,175$)

CV – Coeficiente de Variação

Médias diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância com diferentes na coluna ($P < 0,05$)

Para os parâmetros de características ósseas foram observadas diferenças para o RM e P (Tabela 5) ($P < 0,01$) tendo o tratamento NR com menor valor de RM comparado ao NP com redução média de 5,59%. Em relação ao teor de P foi observada diferença ($P < 0,001$) entre o tratamento NR e os demais tratamentos, com uma redução média de 1,32%.

TABELA 5 - RESÍDUO MINERAL (RM), PORCENTAGEM DE CÁLCIO (CA) E PORCENTAGEM DE FÓSFORO (P) AO 21 DIAS DE IDADE DA TÍBIA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO BAIXOS NÍVEIS DE FITATO E SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES DOSES DE FITASE

Tratamentos	RM (%)	Ca (%)	P (%)
NP	47,62 a	16,79	8,67 a
NR	42,03 b	16,19	7,06 b
NR+750 FTU/Kg	44,50 ab	17,08	8,19 a
NR+1500 FTU/Kg	45,22 ab	17,71	8,30 a
P-Value	<0,001	0,183	<0,001
CV%	4,77	8,81	5,13

NP - Níveis preconizados de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_d)

NR - Níveis reduzidos Ca (0,192) e P_d (0,175)

CV – Coeficiente de Variação

*Médias diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de significância

**Médias seguidas de letras diferem entre si na coluna (P<0,01)

4 DISCUSSÃO

Os resultados indicam que a redução de 0.192% de Ca e 0.175% de Pd em dietas para frangos de corte tem impacto no desempenho dos animais. Dietas contendo enzima fitase minimizam os efeitos dessa redução como já demonstrados em trabalhos de Santos et al. (2014); Sebastian et al. (1996). Porém, em dietas contendo baixos níveis de fitato como neste estudo, supõe-se que a menor quantidade de substrato para a enzima atuar fez com que as dietas com níveis reduzidos mais adição de fitase não fossem tão eficientes. Quando se utiliza níveis convencionais de Ca e Pd podemos observar melhor desempenho dos animais, pode se entender que a redução dos níveis de Ca e Pd seriam supridas pela fitase quando houvesse substrato para atuação da enzima, uma vez que são substrato dependentes.

Em trabalho de Liu et al. (2016), seguindo a hipótese de que fitases em dietas contendo 0, 6 e 12% de farinha de carne e ossos teriam efeito menos pronunciado, uma vez que haveria uma menor quantidade de fitato para atuação da enzima, observaram que os efeitos decorrentes da fitase foram maiores em dietas com níveis reduzidos de Ca e P sem adição de farinha de carne e ossos, apresentando melhor CA aos 38 dias de idade quando comparado aos tratamentos com adição de farinha de carne e ossos e adição de fitase, levando a conclusão de que os efeitos da enzima fitase são mais evidentes em dietas vegetais onde há maior presença de fitato, substrato para atuação da enzima.

Com relação ao rendimento de carcaça e cortes essa diferença pode ser explicada levando em consideração as variáveis de CR e GP em que o tratamento com níveis reduzidos apresentou diferença de peso de cerca de 500 g menor aos 42 dias de idade. Lacerda (2010), testando tratamentos considerando a matriz da fitase com redução de 0,1% de Ca e Pd mais 0,012% de lisina digestível e 12 Kcal de energia ou apenas a matriz do CA e Pd, com inclusão de 500FTU de fitase não observou diferença no rendimento de carcaça e cortes (peito com pele e osso, e coxa e sobrecoxa). Atia et al. (2000) e Santos (2005), trabalhando com diferentes níveis de fitase e redução de fósforo inorgânico para frangos de corte de 1 aos 42 dias também não encontraram diferença para rendimento de carcaça entre os tratamentos com ou sem suplementação de fitase e níveis convencionais de Ca e P.

A presença de ácido fitico na dieta pode aumentar a renovação celular e o

aumento da produção de mucina no intestino fazendo com que se aumente a perda de nitrogênio endógeno e consequente aumento os gastos com energia, sendo assim, a fitase pode reduzir esses efeito negativo em dietas contendo altos níveis de fitato (COWIESON et al., 2009). No entanto, as dietas testadas neste trabalho continham baixo nível de fitato e provavelmente por este motivo não foi possível observar efeitos negativos do fitato e positivos quando havia inclusão de fitase, podendo ser uma justificativa da enzima não afetar a digestibilidade das diferentes frações (MS, PB e EB).

O Ca e P são os principais componentes minerais dos ossos, sendo necessário para a formação óssea nas primeiras semanas de vida das aves. Dessa forma, quando se têm esses minerais em quantidades que atendam o requerimento das aves ou quando se utiliza de aditivos como é o caso da utilização da enzima fitase para disponibiliza-los, podemos trabalhar com níveis reduzidos de Ca e Pd na dieta e mesmo assim obter valores de resíduos minerais que se equivalem aos valores de aves que consumiram dietas que atendiam seus requerimentos minerais. Foi observado que o percentual de fósforo nas cinzas ósseas foi igual para os tratamentos NP e NR com adição de fitase, esses dados corroboram com Payne et al. (2005), que avaliaram 2 níveis de Ca e P e 3 inclusões de fitase na forma líquida e em pó e não observaram diferenças na quantidade de RM entre as aves alimentadas com NP de Ca e P e com NR e adição de fitase.

Os dados encontrados demonstram o efeito da fitase na disponibilização do fósforo fítico uma vez que os resultados de %P nas cinzas ósseas demonstraram que dietas sem adição de fitase ou NP de Ca e P existe uma redução da recuperação de P nas cinzas ósseas.

5 CONCLUSÃO

Embora a adição de fitase tenha mantido os resultados de digestibilidade e características ósseas nos tratamentos com níveis reduzidos de Ca ($-0,192\%$) e P ($-0,132\%$) em dietas contendo baixos níveis de fitato, o desempenho não se igualou ao tratamento controle com níveis recomendados de Ca e P.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of the association of the agricultural chemists**. 16.ed. Washington, D.C.: 1995. 1230p.
- ATIA, F.A.; WAIBEL, P.E.; HERMES, I. et al. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. **Poultry Science**, 79: 231—239, 2000.
- COWIESON, A.; BEDFORD, M.; SELLE, P. et al. Phytate and microbial phytase: Implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, 65(3), p.401-418, 2000.
- GREINER, R.; KONIETZNY, U. Phytases: Biochemistry, Enzimology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In: BEDFORD, R.M.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal Nutrition**. 2 ed CAB, London, UK, 2010. Cap 5, p.96-128.
- HEUBNER, W.; STADLER, H. Determination of phytin by titration. *Biochemische Zeitschrift*, 64 (1914), p. 422, 1914.
- KONIETZNY, U.; GREINER, R. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). **International Journal of Food Science and Technology** 37, p.791–812, 2002.
- LACERDA, É. G. **Adição de fitase na dieta de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade**. 2010. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)– Curso de Pós Graduação em Ciência Animal - Centro Universitário de Vila Velha.
- LATTA, M., & ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 28(6), 1313–1315, 1980. Doi:10.1021/jf60232a049.
- LIU, S. Y.; COWIESON, A. J.; SELLE, P. H. The influence of meat-and-bone meal and exogenous phytase on growth performance, bone mineralisation and digestibility coefficients of protein (N), amino acids and starch in broiler chickens. **Animal Nutrition**, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405654516300087>>. Acesso em: 01/12/2018
- STEENBOCK, H.; LOWE, J.T.; KEIGER, C.H. Cereals and rickets. IX. The availability of phytin-P to the chick. **Poultry Science**, 18: p.40–44, 1939.
- PAYNE, R. L.; LAVERGNE, T. K.; SOUTHERN, L. L. A comparison of two sources of phytase in liquid and dry forms in broilers, *Poultry Science*, v.84, n.2, p.265-272, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ps/84.2.265>>. Acesso em: 25/11/2018
- SANTOS, F. R. **Efeito da suplementação com fitase sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte**. 2005. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Curso de Pós Graduação em Zootecnia – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

SANTOS T. T.; WALK, C. L.; SRINONGKOTE, S. Influence of phytate level on broiler performance and the efficacy of 2 microbial phytases from 0 to 21 days of age, **The Journal of Applied Poultry Research**, v.23, n.2, p.181–187, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3382/japr.2013-00842>>. Acesso em: 19/11/2018

SCOTT, T. A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash(Celite)] for determiningapparentmetabolizable energy ofwheat or barley-based broiler diets with or without enzymes. **Poultry Science**, 76: p.594–598, 1997.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R. et al. Efficacy of Supplemental Microbial Phytase at Different Dietary Calcium Levels on Growth Performance and Mineral Utilization of Broiler Chickens. , **Poultry Science**, 75(12): p.1516-23, 1996.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 21-32, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52731999000100002>. Acesso em: 30/11/2018.

CAPÍTULO III - EFEITO DA INCLUSÃO DE FITASE NO DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARCAÇA, DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO.

RESUMO

O estudo teve como objetivo a inclusão de diferentes doses de fitase em dietas de frangos de corte contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo e diferentes níveis de fitato, sobre desempenho, rendimento de carcaça, digestibilidade ileal e composição óssea. Foram utilizados 1404 frangos de corte da linhagem Cobb®500, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 3 (2 níveis de fitato médio e alto (MF e AF) e três níveis de fitase (0, 750 e 1500 FTU/kg de fitase) com níveis reduzidos de Ca (-0,192) do valor preconizado 0,700 e Pd (-0,175) do valor 0,366 preconizado, sendo 6 tratamentos e 9 repetições cada. Aos 21, 35 e 42 dias de idade foi avaliado o consumo médio de ração (CMR), ganho de peso médio (GPM) e conversão alimentar (CA). Para análise de coeficiente de digestibilidade aparente (CDA), 4 aves por repetição foram eutanasiadas aos 21 dias de idade, para coleta do conteúdo ileal e posterior análise e cálculo do CDA da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e Energia Bruta (EB), nesta mesma idade, uma ave de cada repetição foi retirada a tibia direita para quantificação óssea do resíduo mineral (%RM) e teor de Ca e P. Aos 42 dias de idade, uma ave por repetição foi abatida para mensuração do rendimento de carcaça e cortes. Os animais que receberam fitase na dieta, apresentaram maior CMR ($P < 0.0001$). Houve efeito de interação para os níveis de fitato e fitase para as variáveis de CDA de MS, PB e EB ($P < 0.0001$). Sendo que, ao incluir 1500 FTU/kg de fitase na dieta, os animais que receberam dieta contendo AF apresentaram melhor CDA em todos os parâmetros. Os animais que receberam dieta contendo Fitase (750 e 1500 FTU/kg) apresentaram maior peso de osso, %RM, %Ca e %P, quando comparado ao tratamento sem Fitase ($P < 0.01$). Já em relação ao Fitato, os animais que receberam dieta com MF apresentaram maior %P quando comparado aos animais que receberam dieta com AF. A adição de fitase em dietas com níveis reduzidos de Ca e P é capaz de melhorar os coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta na presença de altos níveis de fitato, além de manter as características ósseas. Porém, a redução nos níveis de Ca e P na dieta prejudica o desempenho de frangos de corte.

Palavras chaves: Cálcio. Digestibilidade. Enzima. Fósforo. Substrato.

ABSTRACT

The aim of the study was to include different doses of phytase in broiler diets containing reduced levels of calcium and phosphorus and different levels of phytate, on performance, carcass yield, ileal digestibility and bone composition. A total of 1404 broilers of the Cobb®500 lineage were used, in a completely randomized design, in a 2 x 3 factorial scheme (2 medium and high phytate levels (MF and AF) and three phytase levels (0, 750 and 1500 FTU / kg of phytase) with reduced levels of Ca (-0,192) from the recommended value of 0.700 and Pd (-0.175) from the recommended value of 0.366, with 6 treatments and 9 replicates each. At 21, 35 and 42 days of age, (DCM), four birds per replicate were euthanized at 21 days of age for collection of the ileal and posterior contents analysis and calculation of dry matter (DM), crude protein (CP) and crude energy (EB), at the same age, one bird of each replicate was removed from the right tibia for bone mineral content (MR) of Ca and P. At 42 days of age, one bird per repetition was slaughtered to measure the carcass yield and cuts. The animals that received phytase in the diet presented higher CMR ($P < 0.0001$). There was an interaction effect for the phytate and phytase levels for the CDA variables of MS, PB and EB ($P < 0.0001$). Being that by including 1500 FTU / kg of phytase in the diet, the animals that received diet containing AF presented better CDA in all the parameters. The animals receiving a diet containing Phytase (750 and 1500 FTU / kg) presented higher bone weight, % RM, % Ca and % P, when compared to treatment without Phytase ($P < 0.01$). In relation to Fitato, the animals that received diet with MF presented higher % P when compared to the animals that received diet with FA. The addition of phytase in diets with reduced levels of Ca and P is able to improve the coefficient of apparent digestibility of dry matter, crude protein and crude energy in the presence of high levels of phytate, in addition to maintaining the bone characteristics. However, the reduction in Ca and P levels in the diet impairs the performance of broiler chickens.

Key words: Calcium. Digestibility. Enzyme. Phosphorus. Substrate.

1 INTRODUÇÃO

Grande parte das dietas brasileiras para frangos de corte tem como base de ingredientes energéticos e proteicos, milho e farelo de soja respectivamente, e estes ingredientes de origem vegetal carregam consigo um componente conhecido como Fitato, principal molécula fonte de fósforo (P) nas sementes vegetais.

O fitato já é extensamente estudado para compreender seus efeitos quando presente nas dietas de monogástricos, sendo conhecido como um fator anti nutritivo em dietas para frangos de corte. Esta molécula tem a capacidade de interagir com outros componentes da dieta, reduzindo a capacidade de absorção de minerais como cálcio, ferro, manganês, proteínas, peptídeos e aminoácidos além aumentar a perda endógena, desta forma afetando também a utilização dos alimentos pelas aves (COWIESON et al., 2008)

Para tentar mitigar estes efeitos uma alternativa é a utilização de enzimas exógenas. Fitases são enzimas capazes de hidrolisar o fitato, quando presentes, podem liberar fósforo fítico, além de reduzir seus efeitos anti nutritivos. Devido à capacidade de hidrolise do fitato, as fitases tornaram se ingredientes economicamente viáveis, capazes de disponibilizar fósforo fítico, reduzir o uso de fósforo inorgânico e consequentemente a excreção de fósforo não absorvido para o ambiente. Além destes benefícios, é uma alternativa ao uso de farinhas de origem animal que são uma fonte de P barata, porém com composição variável, restrição mercadológica e que podem transportar micro-organismos como salmonela e *clostridium ssp* para as dietas das aves.

Porém, os efeitos da utilização da fitase são dependentes de vários fatores, como a concentração de substrato, pH, tempo de exposição e temperatura, todas essas condições podem influenciar na capacidade de hidrólise da fitase sobre o fitato (SANTOS et al., 2014). Outros fatores que também devem ser considerados são nível de Ca e P da dieta, concentração de fitato nos ingredientes e a idade das aves (TAMIM et al., 2004).

Sabendo de todas as implicações decorrentes da presença de fitato nas dietas e da utilização da fitase este trabalho teve como objetivo avaliar a inclusão de fitase em diferentes doses em dietas de frangos de corte contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo e diferentes níveis de fitato, sobre

desempenho (consumo médio de ração, ganho de peso médio e conversão alimentar), rendimento de carcaça, digestibilidade ileal e composição óssea.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

2.1 ANIMAIS E LOCAL EXPERIMENTAL

Foram utilizados 1404 frangos de corte machos da linhagem *Cobb® 500*, alojados de 1 a 42 dias de idade em galpão de alvenaria. As unidades experimentais foram distribuídas em boxes medindo 1,65 x 1,25 (c x l), totalizando 2,06 m² de área, com cama de maravalha de pinus. O controle da temperatura ambiente durante o período experimental seguiu as recomendações preconizadas pela linhagem. A ração e água foram fornecidas a vontade em comedouros tubulares e bebedouros tipo *Nipple* durante todo o período experimental.

2.2 DIETAS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x3, sendo seis tratamentos de repetições e 26 animais cada. Os tratamentos foram: níveis reduzidos de Ca (-0,192) e Pd (-0,175), sendo compostos por 2 níveis de fitato (médio (MF) e alto fitato (AF)) e três níveis de fitase (0, 750 e 1500 FTU/kg de fitase derivada de *Escherichia Coli* modificada (ECP)). Os tratamentos com nível MF foram formulados a base de milho e farelo de soja e nível médio de fitato de 4,25 Kg/ton de ração, e as dietas com nível AF foram formuladas a base de milho, farelo de soja e farelo de arroz desengordurado e continham nível médio 6,00 Kg/ton de ração. Durante o período experimental três dietas foram formuladas divididas por fases: inicial (1-21 dias; Tabela 1), crescimento (22-35 dias; Tabela 2) e final (36-42 dias; Tabela 3) de acordo com as recomendações das Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2011) para frangos de corte de desempenho superior.

A dieta inicial de 1 a 21 foi utilizada para o ensaio de digestibilidade e continha 2% de celite (Celite, Celite Corp., Lompoc, CA), incluído como

indicador interno indigestível para os cálculos de digestibilidade.

As dietas foram fabricadas em duas etapas, sendo a pré-mistura que continha todos os micro ingredientes (aminoácidos e premix vitamínico e mineral) feita em misturador duplo cone de 60 kg e em seguida a pré-mistura foi incorporada aos macro ingredientes em misturador vertical com capacidade de 500 Kg. Todas as dietas foram fornecidas na forma farelada e apresentaram DGM médio de 728 μ m.

TABELA 1 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 1 A 21 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS

(continuação)

INICIAL						
Ingredientes	Médio Fitato			Alto Fitato		
	Sem Fitase	750 FTU de fitase	1500 FTU de Fitase	Sem Fitase	750 FTU de Fitase	1500 FTU de Fitase
Milho	55,16	55,16	55,16	47,86	47,86	47,86
Oleo Soja	3,53	3,53	3,53	4,49	4,49	4,49
Far. Soja 48%	36,22	36,227	36,227	35,60	35,60	35,60
Calcário	1,152	1,152	1,152	1,168	1,168	1,168
Fosfato Monocálcico	0,663	0,663	0,663	0,611	0,611	0,611
Sal	0,408	0,408	0,408	0,405	0,405	0,405
Quantum Blue	0,000	0,015	0,030	0,000	0,015	0,015
Econase XT	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix ¹	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
L-Lisina HCl	0,200	0,200	0,200	0,195	0,195	0,195
DL-Metionina 99%	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320	0,320
L-Treonina	0,027	0,027	0,027	0,033	0,033	0,033
Celite	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
Far. Arroz desengordura	0,000	0,000	0,000	7,000	7,000	7,000
COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA						
Umidade %	10,718	10,718	10,718	10,486	10,486	10,486
Proteína bruta %	22,318	22,809	22,809	22,362	22,853	22,853
Gordura bruta %	6,019	6,019	6,019	7,718	7,718	7,718
Fibra bruta %	2,455	2,455	2,455	2,867	2,867	2,867
Cinzas %	5,723	5,723	5,723	6,223	6,223	6,223
Cálcio %	0,688	0,880	0,880	0,688	0,880	0,880

TABELA 1 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 1 A 21 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS

INICIAL							(conclusão)
Ingredientes	Médio Fitato			Alto Fitato			
	Sem Fitase	750 FTU de fitase	1500 FTU de Fitase	Sem Fitase	750 FTU de Fitase	1500 FTU de Fitase	
COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA							
P fítico %	0,244	0,244	0,244	0,328	0,328	0,328	
Fitato ² %	0,38	0,42	0,42	0,54	0,61	0,61	
Recuperação Fitase FTU/kg	<150	<150	<150	754/1061	1464/2177	1464/2177	
Energia Met aves Kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100	
Lis dig %	1,250	1,270	1,270	1,250	1,270	1,270	
Met dig %	0,616	0,620	0,620	0,616	0,620	0,620	
Met+Cys dig %	0,923	0,967	0,967	0,922	0,966	0,966	
Thr dig %	0,781	0,820	0,820	0,781	0,820	0,820	
Tryp dig %	0,250	0,273	0,273	0,251	0,274	0,274	
Valina dig %	0,943	0,970	0,970	0,943	0,970	0,970	
Na %	0,180	0,220	0,220	0,180	0,220	0,220	

¹Suplementação por kg da dieta: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; Tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg; iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg

² Fitato mensurado por método colorimétrico

TABELA 2 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 22 A 35 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.

(continuação)

CRESCIMENTO					
Ingredientes	Médio Fitato			Alto Fitato	
	Sem Fitase	750 FTU de fitase	1500 FTU de Fitase	Sem Fitase	750 FTU de Fitase
Milho	66,395	66,395	66,395	61,179	61,179
Oleo Soja	1,028	1,028	1,028	1,716	1,716
Far. Soja 48%	29,960	29,960	29,960	29,514	29,514
Calcário	1,049	1,049	1,049	1,060	1,060
Fosfato Monocálcico	0,317	0,317	0,317	0,280	0,280
Sal	0,367	0,367	0,367	0,365	0,365
Quantum Blue	0,000	0,015	0,030	0,015	0,030
Econase XT	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix ¹	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
L-Lisina HCl	0,298	0,298	0,298	0,295	0,295
DL-Metionina 99%	0,268	0,268	0,268	0,269	0,269
L-Treonina	0,012	0,012	0,012	0,016	0,016
Far. Arroz desengordura	0,000	0,000	0,000	5,000	5,000
COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA					
Umidade %	11,561	11,561	11,561	11,395	11,395
Proteína bruta %	20,320	20,811	20,811	20,351	20,842
Gordura bruta %	3,881	3,881	3,881	5,094	5,094
Fibra bruta %	2,404	2,404	2,404	2,698	2,698
Cinzas %	2,551	2,551	2,551	2,908	2,908
Cálcio %	0,568	0,760	0,760	0,568	0,760
P disponível %	0,179	0,354	0,354	0,179	0,354
P fítico %	0,243	0,243	0,243	0,303	0,303

TABELA 2 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 22 A 35 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.

(continuação)

CRESCIMENTO						
Médio Fitato				Alto Fitato		
Ingredientes	Sem Fitase	750 FTU de fitase	1500 FTU de Fitase	Sem Fitase	750 FTU de Fitase	1500 FTU de Fitase
COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA						
Fitato ² %	3150	3150	3150	3150	3150	3150
Recuperação Fitase FTU/kg	1,180	1,200	1,200	1,180	1,200	1,200
Energia Met aves Kcal/kg	0,546	0,550	0,550	0,546	0,550	0,550
Lis dig %	0,831	0,875	0,875	0,830	0,874	0,874
Met dig %	0,696	0,735	0,735	0,696	0,735	0,735
Met+Cys dig %	0,218	0,241	0,241	0,219	0,242	0,242
Thr dig %	0,853	0,880	0,880	0,853	0,880	0,880
Tryp dig %	0,165	0,205	0,205	0,165	0,205	0,205
Valina dig %	11,561	11,561	11,561	11,395	11,395	11,395
Na %	20,320	20,811	20,811	20,351	20,842	20,842

¹Suplementação por kg da dieta: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; Tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg; iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg

² Fitato mensurado por método colorimétrico

TABELA 3 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 36 A 42 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.

(conclusão)

FINAL					
Ingredientes	Médio Fitato			Alto Fitato	
	Sem Fitase	750 FTU de fitase	1500 FTU de Fitase	Sem Fitase	750 FTU de Fitase
1500 FTU de Fitase					
Milho	64,201	64,201	64,201	60,970	60,970
Oleo Soja	3,141	3,141	3,141	3,829	3,829
Far. Soja 48%	27,424	27,424	27,424	26,977	26,977
Calcário	0,919	0,919	0,919	0,931	0,931
Fosfato Monocálcico	0,144	0,144	0,144	0,108	0,108
Sal	0,382	0,382	0,382	0,380	0,380
Quantum Blue	0,000	0,015	0,030	0,000	0,015
Econase XT	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006
Premix ¹	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
L-Lisina HCl	0,212	0,212	0,212	0,209	0,209
DL-Metionina 99%	0,257	0,257	0,257	0,257	0,257
L-Treonina	0,015	0,015	0,015	0,019	0,019
Far. Arroz desengordura	0,000	0,000	0,000	5,000	5,000
COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA					
Umidade %	11,019	11,019	11,019	10,854	10,854
Proteína bruta %	18,843	19,334	19,334	18,873	19,364
Gordura bruta %	5,869	5,869	5,869	7,082	7,082
Fibra bruta %	2,260	2,260	2,260	2,554	2,554
Cinzas %	5,348	5,348	5,348	5,706	5,706
Cálcio %	0,478	0,670	0,670	0,478	0,670
P disponível %	0,135	0,310	0,310	0,135	0,310
P fítico %	0,229	0,229	0,229	0,289	0,289

TABELA 3 - DIETAS EXPERIMENTAIS DE 36 A 42 DIAS E COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA DAS DIETAS.

(conclusão)

FINAL						
Médio Fitato				Alto Fitato		
Ingredientes	Sem Fitase	750 FTU de fitase	1500 FTU de Fitase	Sem Fitase	750 FTU de Fitase	1500 FTU de Fitase
COMPOSIÇÃO QUÍMICA CALCULADA						
Fitato ² %	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Recuperação Fitase FTU/kg	1,040	1,060	1,060	1,040	1,060	1,060
Energia Met aves Kcal/kg	0,516	0,520	0,520	0,516	0,520	0,520
Lis dig %	0,782	0,826	0,826	0,781	0,825	0,825
Met dig %	0,651	0,690	0,690	0,651	0,690	0,690
Met+Cys dig %	0,202	0,225	0,225	0,202	0,225	0,225
Thr dig %	0,793	0,820	0,820	0,793	0,820	0,820
Tryp dig %	0,170	0,210	0,210	0,170	0,210	0,210
Valina dig %	11,019	11,019	11,019	10,854	10,854	10,854
Na %	18,843	19,334	19,334	18,873	19,364	19,364

¹Suplementação por kg da dieta: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; Tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg; iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg

² Fitato mensurado por método colorimétrico

2.3 DESEMPENHO

As aves e ração fornecida foram pesadas no dia do alojamento e aos 21, 35 e 42 dias de idade. Neste período também foram pesados os volumes fornecidos de ração e as sobras para cada unidade experimental. Pela diferença entre ofertado e sobras foi calculado o consumo de ração ($CMR = \text{ração fornecida-sobras de ração} / N^{\circ} \text{ médio de aves do box}$). O ganho de peso médio foi calculado pelo peso final subtraindo o peso inicial ($GPM = (\text{Peso final-Peso inicial}) / N^{\circ} \text{ médio de aves do box}$). A mortalidade foi verificada diariamente, mensurando o peso da ave morta. Com base nessas informações foi calculado a conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CA), conforme: $CA = CR / (GP + \text{peso mortalidade})$.

2.4 ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE ILEAL E CARACTERÍSTICAS ÓSSEAS

Todas as aves foram alimentadas com a dieta inicial (Tabela 1) até o 21º dia de idade a fim de determinar o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína e da energia.

Para coleta de conteúdo ileal 4 aves por repetição foram eutanasiadas por deslocamento cervical, evisceradas e o conteúdo ileal coletado. A porção ileal foi definida como sendo o segmento entre 4 cm depois do divertículo de Meckel e 4 cm antes da junção íleo-ceco-cólica. O conteúdo ileal foi removido manualmente por compressão e colocado dentro de potes plásticos identificados. Todas as amostras após a coleta foram mantidas em freezer a -5°C.

Para análise de características ósseas, foi utilizada uma ave por repetição para coleta de conteúdo ileal e retirada à tíbia da perna direita.

2.5 RENDIMENTO DE CARCAÇA E CORTES

Aos 42 dias de idade, uma ave de cada repetição com peso vivo semelhante à média da repetição $\pm 5\%$ foi selecionada para avaliar o rendimento de carcaça e cortes, totalizando nove aves de cada tratamento. As aves foram identificadas com um lacre plástico numerado em uma das pernas.

Após o abate, remoção das penas, cabeça, pés e vísceras, as carcaças foram lavadas e resfriadas em chiller durante 60 minutos a 2°C. As aves foram transferidas para a sala de cortes, na qual os cortes foram processados. (peito com pele e osso e coxa + sobrecoxa). Pela relação entre o peso vivo de cada ave e o peso de sua carcaça, foi determinado o rendimento de carcaça, e pela relação entre o peso da carcaça e os cortes foram determinados os rendimentos de coxas + sobrecoxas e peito com pele e com osso.

2.6 ANÁLISES QUÍMICAS

As digestas foram descongeladas, homogeneizadas e secas a 55°C até peso constante, após isso as amostras foram moídas em moinho tipo Willey para que atingissem tamanho de partícula de 1mm. As amostras de excreta e da dieta experimental foram secas em estufa a 105°C para determinar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS) (AOAC, 1995), a quantificação do conteúdo de proteína bruta (PB) da dieta e do conteúdo ileal foi mensurada a partir do método (AOAC, 1995), e para Energia Bruta (EB) as amostras foram analisadas em bomba calorimétrica (Modelo 1261, Parr Instrument Co., Moline, IL). O conteúdo de cinza insolúvel da dieta, excreta e conteúdo ileal foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Scott and Boldaji (1997).

A digestibilidade das frações da dieta foram realizados, com o uso de indicador externo CIA, utilizando o fator de indigestibilidade (FI): $FI = CIA_{dieta} / CIA_{excreta}$. O coeficiente de digestibilidade ileal (Cdi) dos componente MS, PB e energia foi calculada segundo a equação: $Cdi_{do\ componente} = (Componente\ na\ dieta) - (Componente\ no\ conteúdo\ ileal \times FI) / Componente\ na\ dieta$.

A quantificação de fitato foi feita pelo método colorimétrico, derivado do método descrito por Heubner e Standler (1914) que se baseia na reação entre íon Férrico Fe^{3+} e o ácido sulfossalicílico conhecido como reagente de Wade – Rw e correções da amostra purificada conforme metodologia descrita por Latta e Eskin (1980).

Para quantificação de cinzas totais, cálcio e fósforo das tíbias, após retiradas as tíbias foram descarnadas manualmente, limpas e desengorduras submersas em éter etílico por (3 dias). Após este período os ossos foram

deixados ao ar livre até que todo éter evaporasse e depois foram secos em estufa a 105°C e pesados em balança de precisão de 0,0001 g. Depois de pesadas as tíbias foram calcinadas em mufla a 600°C por 8 horas e então foram moídos até atingirem 1mm de tamanho de partícula para posterior análises dos teores de resíduo mineral (RM), cálcio (Ca) e fósforo (P) segundo a metodologia da AOAC (1995).

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a análise estatística de desempenho, cada box foi considerado uma unidade experimental (GPM, CMR, CA). Para as variáveis de rendimento de carcaça, cortes e características ósseas cada animal foi considerado representando a unidade experimental. Para os dados de digestibilidade (CDA da MS, PB e EB), o pool de 4 animais foi considerado uma unidade experimental. Os dados foram submetidos ao teste de Bartlett para verificação da homogeneidade das variâncias, seguido por teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resíduos. Posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3 RESULTADOS

Aos 21, 35 e 42 dias de idade foi observado maior CMR e GPM nos animais que receberam 750 e 1500 FTU/kg de fitase na dieta em comparação a dieta sem fitase ($P < 0.05$; Tabela 4), sendo a média de CMR aos 42 dias de idade foi 4264g; 4561g e 4495g; e a média para GPM de 2395g; 2562g e 2551g; para os tratamentos com 0, 750 e 1500 FTU/kg de fitase, respectivamente.

TABELA 4 - CONSUMO DE RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE

		Consumo médio de ração (g)		
FITATO	FITASE	21 dias	35 dias	42 dias
MÉDIO FITATO	0 FTU	1032	3057	4201
	750 FTU	1135	3302	4541
	1500 FTU	1097	3265	4500
ALTO FITATO	0 FTU	1062	3136	4328
	750 FTU	1134	3330	4581
	1500 FTU	1097	3265	4490
Efeitos Independentes				
Níveis de Fitato				
MÉDIO		1088	3208	4414
ALTO		1098	3244	4466
Fitase				
0 FTU		1047 b	3097 b	4264 b
750 FTU		1135 a	3316 a	4561 a
1500 FTU		1097 a	3265 a	4495 a
CV%		0.18	0.04	0.03
P Fitato*		0.5204	0.2484	0.1668
P Fitase*		<0.0001	<0.0001	<0.0001
Fitato vs Fitase**		0.6183	0.5517	0.3291

* Letras minúsculas nos efeitos independentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 5 - GANHO DE PESO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE NILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE

FITATO	FITASE	Ganho médio de peso (g)		
		21 dias	35 dias	42 dias
MÉDIO FITATO	0 FTU	726	1761	2336
	750 FTU	794	1906	2543
	1500 FTU	777	1921	2571
ALTO FITATO	0 FTU	748	1833	2453
	750 FTU	791	1912	2581
	1500 FTU	772	1912	2532
Efeitos Independentes				
Níveis de Fitase				
MÉDIO		766	1862	2483
ALTO		770	1886	2522
Fitase				
0 FTU		737 b	1797 b	2395 b
750 FTU		792 a	1909 a	2562 a
1500 FTU		775 a	1917 a	2551 a
CV%		0.18	0.09	0.06
P Fitato*		0.5792	0.2898	0.1679
P Fitase*		<0.0001	<0.0001	<0.0001
Fitato vs Fitase**		0.3600	0.2813	0.0841

* Letras minúsculas nos efeitos independentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

TABELA 6 - CONVERSÃO ALIMENTAR DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE NILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE

FITATO	FITASE	Conversão alimentar (g/g)		
		21 dias	35 dias	42 dias
MÉDIO FITATO	0 FTU	1.422	1.736	1.799
	750 FTU	1.429	1.733	1.787
	1500 FTU	1.413	1.701	1.751
ALTO FITATO	0 FTU	1.419	1.711	1.765
	750 FTU	1.435	1.748	1.775
	1500 FTU	1.420	1.708	1.774
Efeitos Independentes				
Níveis de Fitato				
MÉDIO		1.421	1.723	1.779
ALTO		1.425	1.722	1.771
Fitase				
0 FTU		1.420	1.724	1.782
750 FTU		1.432	1.740	1.781
1500 FTU		1.417	1.704	1.762
CV%		156.00	101.00	98.06
P Fitato*		0.7862	0.9647	0.4404
P Fitase*		0.5768	0.1879	0.2313
Fitato vs Fitase**		0.9395	0.5429	0.0854

* Letras minúsculas nos efeitos independentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Para as variáveis de rendimento de carcaça, peito, coxa e sobre coxa, não foram observadas diferenças estatística ($P > 0,05$; Tabela 5).

Para os níveis de fitato e fitase, foi observado efeito de interação ($P < 0.0001$; Tabela 6), para as variáveis CDA de MS, PB e EB. Os animais apresentaram melhor CDAMS e CDAEB quando receberam dietas contendo MF+0 e 750 FTU/kg de fitase, comparada a dieta MF+1500 FTU/kg de fitase. Já para CDAPB, os animais que receberam dieta contendo MF+750 FTU/kg de fitase, apresentaram melhor CDA quando comparados aos tratamentos MF+0 e 1500 FTU/kg. Ao receberem dietas contendo AF+750 e 1500 FTU/kg de fitase, os animais apresentaram maior CDA para MS, PB e EB comparado com o tratamento AF+0 FTU/kg de fitase.

TABELA 7 - RENDIMENTO DE CARÇAÇA, PEITO E COXA E SOBRE COXA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE AOS 42 DIAS DE IDADE

FITATO	FITASE	Carcça	Rendimento Peito	Coxa+sobrecoxa
MÉDIO FITATO	0 FTU	78.70	37.02	28.34
	750 FTU	79.00	36.51	28.59
	1500 FTU	79.62	36.62	27.25
ALTO FITATO	0 FTU	78.59	37.07	28.30
	750 FTU	79.58	36.23	28.13
	1500 FTU	80.12	36.50	28.49
Efeitos Simples				
Níveis de fitato				
MÉDIO		79.11	36.60	28.06
ALTO		79.43	36.72	28.3
Níveis de Fitase				
0 FTU		78.64	37.04	28.32
750 FTU		79.29	36.37	28.36
1500 FTU		79.87	36.56	27.87
CV		2.82	6.67	7.96
P Fitato*		0.5125	0.8497	0.5999
P Fitase*		0.1288	0.6481	0.6266
Fitato vs Fitase**		0.8184	0.9756	0.2965

* Letras minúsculas nos efeitos independentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Quando comparamos o efeito do nível de fitase dentro de cada nível de fitato, as dietas com MF+0 FTU/kg apresentaram melhor CDA para MS, PB e EB, quando comparada com a AF+0 FTU/kg. Já para o nível de 750 FTU/kg de fitase, o tratamento de MF apresentou melhor para CDAMS. Ao incluir 1500 FTU/kg de fitase na dieta, os animais que receberam dieta contendo AF apresentaram melhor CDA para MS, PB e EB.

TABELA 8 - COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE ILEAL DE DIFERENTES FRAÇÕES DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE AOS 21 DIAS

FITATO	FITASE	Coeficiente de digestibilidade		
		MS	PB	AEN
MÉDIO FITATO	0 FTU	65.40 Ae	76.58 Be	70.68 Ae
	750 FTU	65.51 Am	79.25 Am	70.31 Am
	1500 FTU	61.47 By	76.53 By	66.63 By
ALTO FITATO	0 FTU	57.46 Bf	73.16 Bf	64.91 Bf
	750 FTU	62.93 An	78.33 Am	68.54 Am
	1500 FTU	65.32 Ax	79.62 Ax	70.76 Ax
Efeitos Simples				
Níveis de Fitato				
MÉDIO		64.13	77.45	69.21
ALTO		61.91	77.04	68.07
Níveis de Fitase				
0 FTU		61.43	74.87	67.80
750 FTU		64.22	78.79	69.42
1500 FTU		63.40	78.07	68.70
CV		3.58	2.25	3.28
P Fitato*		0.0020	0.3982	0.0934
P Fitase*		0.0051	<0.0001	0.1448
Fitato vs Fitase**		<0.0001	<0.0001	<0.0001

* Letras minúsculas nos efeitos independentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%;

**Letras A, B e C diferem Fitase dentro de cada nível de fitato; Letras minúsculas e, f diferem Fitato dentro do nível 0 FTU de Fitase; Letras minúsculas m, n diferem Fitato dentro do nível 750 FTU de Fitase; Letras minúsculas x, y diferem Fitato dentro do nível 1500 FTU de Fitase pelo teste de Tukey, $p > 0,05$.

Os animais que receberam dieta contendo Fitase (750 e 1500 FTU/kg) apresentaram maior peso de osso, %RM, %Ca e %P, quando comparado ao tratamento sem Fitase ($P < 0.01$). Já em relação ao Fitato, os animais que receberam dieta com MF apresentaram maior %P quando comparado aos animais que receberam dieta com AF.

TABELA 9 - PESO E COMPOSIÇÃO DE RESÍDUO MINERAL (RM), PERCENTUAL DE CÁLCIO (%Ca) E PERCENTUAL DE FÓSFORO (%P) DE TÍBIA DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM DIETAS A BASE DE MILHO E FARELO DE SOJA E/OU FARELO DE ARROZ COM NÍVEIS REDUZIDOS DE CÁLCIO E FÓSFORO COM DIFERENTES NÍVEIS DE FITATO E FITASE AOS 21 DIAS DE IDADE

FITATO	FITASE	Características ósseas			
		Osso (g)	%RM	%Ca	%P
MÉDIO FITATO	0 FTU	1.472	43.54	16.10	8.46
	750 FTU	1.670	47.26	17.76	9.31
	1500 FTU	1.675	48.37	17.18	9.49
ALTO FITATO	0 FTU	1.483	42.98	14.62	8.28
	750 FTU	1.666	45.82	18.12	8.72
	1500 FTU	1.706	46.98	16.91	8.97
Efeitos Simples					
Níveis de Fitato					
MÉDIO		1.606	46.39	17.02	9.09 a
ALTO		1.618	45.26	16.55	8.66 b
Níveis de Fitase					
0 FTU		1.477 b	43.25 b	15.36 b	8.37 b
750 FTU		1.668 a	46.54 a	17.94 a	9.01 a
1500 FTU		1.690 a	47.67 a	17.05 a	9.23 a
CV		120.82	4.85	8.38	22.58
P Fitato*		0.8174	0.0538	0.2601	0.0031
P Fitase*		0.0028	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Fitato vs Fitase**		0.9650	0.7815	0.1843	0.4484

* Letras minúsculas nos efeitos independentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

4 DISCUSSÃO

O Ca e P são importantes componentes das dietas de frangos de corte. Segundo Macari et al. (2002), o Ca é um importante mineral necessário para formação e manutenção de ossos, transmissão de impulsos nervosos, coagulação sanguínea, contração muscular, ativador de sistemas enzimáticos, coadjuvante na secreção de alguns hormônios, etc. O P segundo Runho et al. (2001), tem como principais funções a formação de estrutura óssea, formação de membranas celulares, é componente de ácidos nucleicos envolvidos na diferenciação celular, participa da manutenção do equilíbrio osmótico e eletrolítico, é essencial para transferência de energia na forma de ATP (Adenosina trifosfato), também faz parte dos fosfolipídios, transporte de gorduras, síntese de aminoácidos e proteínas e ainda participa do controle do apetite e na eficiência alimentar.

Sabendo da importância do Ca e P em dietas para frangos de corte, quando observamos os resultados de CMR, GPM nos tratamentos sem adição de fitase, percebemos a influência principalmente da redução de P sobre o CMR e GPM uma vez que, segundo Mc Dowell (1992) a perda de apetite são os primeiros sinais clínicos da deficiência de P, isto devido a participação do P no metabolismo energético, formação de ATP.

Também nos tratamentos com suplementação de 750 ou 1500 FTU/kg de fitase, é possível observar um efeito claro da fitase na disponibilização de P fítico, uma vez que os resultados foram superiores ao tratamento sem adição de fitase. Segundo Cowieson et al. (2008), o fitato é um fator anti nutritivo capaz interferir na absorção e digestão de minerais e nutrientes, consequentemente piorando o desempenho das aves. Porém, não foi observado diferença no desempenho nos tratamentos com diferentes níveis de fitato, diferente dos dados encontrados por Santos et al. (2014), que observaram melhora no desempenho dos frangos de corte quando reduziu de 10,65 para 6,40 g/kg de fitato nas dietas.

O rendimento de carcaça e cortes não apresentou diferença entre os tratamentos, talvez a redução dos níveis de Ca e P pode não influenciar no rendimento de cortes nobres, como é o caso do rendimento de peito e coxa e sobre coxa. Lacerda (2010), testando a matriz da fitase com redução de 0,1% de Ca e Pd, 0,012% de lisina digestível e 12Kcal de Energia ou somente a matriz de Ca e Pd e inclusão de 500FTU de fitase não observou diferença no rendimento de carcaça e

cortes (peito com pele e osso, e coxa e sobrecoxa) o mesmo ocorreu com trabalhos de Atia et al. (2000) e Santos (2005), trabalhando com diferentes níveis de fitase e redução de fósforo inorgânico para frangos de corte de 1 aos 42 dias também não encontraram diferença entre os tratamentos com ou sem suplementação de fitase e níveis convencionais de Ca e P.

A a fitase quando em condições adequadas e na presença de fitato é capaz de hidrolisar esta molécula e disponibilizar o P fítico preso ao mio inositol. Porém, os estudos tem se direcionado na busca para demonstrar os efeitos da fitase na melhoria da digestibilidade de outros nutrientes da dieta como proteína, aminoácidos e amido (RAVINDRAN et al., 2001) e consequentemente melhora no desempenho dos animais. Os trabalhos citados na literatura demonstram melhora no CDMS e CDEB quando há inclusão de fitase nas dietas com níveis reduzidos de Ca e P, se igualando aos tratamentos com níveis padrões de Ca e P, como no trabalho de Omar & Sabha (2009), que ao compararem dietas com níveis convencionais de Ca e P e dietas com níveis reduzidos de Ca e P e adição de 1000, 2000 e 3000FTU/Kg de fitase, observaram que independente da dose de fitase o CDMS e CDPB foram iguais ao controle positivo. O mesmo foi observado por Oliveira et al. (2008), testando níveis reduzidos de fósforo não fítico e inclusão de fitase e observaram que a adição de fitase melhora a digestibilidade das frações analisadas. No entanto, observamos neste estudo que a utilização de 1500FTU/kg de fitase em dietas contendo AF superaram os CDA de da PB e AEB quando comparados ao tratamento MF. Estes resultados nos levam a acreditar que a maior disponibilidade de substrato na dieta deu condições para a enzima atuar, porém os dados não representam os resultados de desempenho, mas pode-se entender que a fitase mitigou os efeitos anti nutritivos do fitato.

Segundo Souza (2002), o tecido ósseo é o segundo tecido priorizado pelo organismo ficando atrás somente do tecido nervoso, e a frente dos tecidos muscular e adiposo. O tecido ósseo é formado por aproximadamente 70% de minerais, entre eles Ca e P sendo estes minerais são responsáveis pela formação da matriz mineral dos ossos, contribuindo com aproximadamente 95% da fração mineral dos ossos (RATH et al., 2000). Quando existe uma deficiência de algum destes minerais invariavelmente haverá problemas motores e de estruturação relacionados a má formação óssea. A adição de fitase foi suficiente para manter os resultados de todos os parâmetros ósseos avaliados melhores do que os tratamentos sem adição de

fitase.

5 CONCLUSÃO

A adição de fitase em dietas com níveis reduzidos de Ca e P é capaz de melhorar os coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta na presença de altos níveis de fitato, além de manter as características ósseas. Porém, reduzir os níveis de Ca e P na dieta sem suplementação de fitase prejudica o desempenho de frangos de corte.

REFERÊNCIAS

- ABO-OMAR, J.M.; SABHA, R. Effects of phytase on broilers performance and body status of phosphorus. **Hebron University Research Journal**, v. 4, p. 55–66, 2009.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of the association of the agricultural chemists**. 16.ed. Washington, D.C.: 1230p, 1995.
- ATIA, F.A. et al. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. **Poultry Science**, v. 79; p. 231—239, 2000.
- COWIESON, A. J., RAVIDRAN, V.; SELLE, P. H. Influence of dietary phytic acid and source of microbial phy- tase on ileal endogenous amino acid flows in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, p. 2287–2299, 2008.
- HEUBNER, W.; STADLER, H. Determination of phytin by titration. **Biochemische Zeitschrift**, v. 64, p. 422, 1914.
- LACERDA, E. G. **Adição de fitase na dieta de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade**. 2010. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Curso de Pós Graduação em Ciência Animal - Centro Universitário de Vila Velha.
- LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28(6), p. 1313–1315, 1980. Doi:10.1021/jf60232a049
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, L. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal, FUNEP/UNESP. 375p, 2002.
- McDOWELL, R.L. Calcium and phosphorus. In: _____. Minerals in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, p.31-32, 1992.
- RATH, N.C., HUFF, W.E., BALOG, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v. 79, p. 1024–1032, 2000.
- RAVINDRAN, V. et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, p. 338–444, 2001.
- RUNHO, R.C. et al. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.187-196, 2001.
- SANTOS, F. R. **Efeito da suplementação com fitase sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte**. 2005. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Curso de Pós Graduação em Zootecnia – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal.
- SANTOS, T. T.; WALK, C. L.; SRINONGKOTE, S. Influence of phytate level on broiler performance and the efficacy of 2 microbial phytases from 0 to 21 days of

age, **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, l. 2, p. 181–187, 2014. Doi: <https://doi.org/10.3382/japr.2013-00842>

SCOTT, T. A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash(Celite)] for determiningapparentmetabolizable energy ofwheat or barley-based broiler diets with or without enzymes. **Poultry Science**, v. 76, p.594–598, 1997.

SOUZA, A.F.G.O. Tecido ósseo em frangos de corte. **Revista eletrônica nutritime**, artigo 152, v.9, n.1, p.1663-1679, 2012.

TAMIM, N.M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens, **Poultry Science**, v. 83, l. 8, p. 1358–1367, 2004. Doi:10.1093/ps/83.8.1358.

CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde que a avicultura moderna vem se organizando, cada vez mais buscamos alcançar resultados excepcionais a um custo competitivo e que gere um produto final de qualidade. A base das dietas brasileiras para frango de corte é milho como ingrediente energético e farelo de soja como ingrediente proteico sendo que ambos carregam em sua composição quantidades significativas de fitato, que é a forma com que os vegetais conseguem armazenar fósforo para a germinação das sementes. Desde que descoberto, ainda na década de 1855 este componente da dieta vem sendo estudado para que tenhamos uma compreensão clara do seu efeito nas dietas e durante a digestão. Após o conhecimento do fitato foi observado nas sementes a presença de uma enzima que era capaz de hidrolisar o anel de fitato onde estavam ligados fósforos que se tornariam disponíveis para o desenvolvimento do embrião das plantas.

Com o passar do tempo, fomos capazes de obter a enzima fitase por meio da cultura de microorganismos como bactérias e fungos e a partir da década de 1990 devido a problemas ambientais relacionados à excreção de fósforo no meio ambiente, preço das fontes de fósforo entre outros fatores a utilização das fitases teve um grande impulso.

Estima-se que hoje mais de 90% das rações para monogástricos produzidas no mundo contenham adição de fitase, e a forma mais usual de utilização da enzima é com intuito de liberação de fósforo quando se tem a hidrólise do fitato onde pode-se gerar até 6 moléculas de fósforo fitico e 1 anel de mio-inositol.

Porém hoje conhecendo a molécula de fitato, sabe que ela tem um efeito anti nutritivo que pode influenciar no desempenho dos frangos de corte e sabendo desta informação os estudos têm sido conduzidos para avaliar os efeitos da nutrição quando “eliminamos” todo o fitato presente nas dietas, e para isso podemos utilizar altas doses de fitase.

Estudos já têm demonstrado efeitos positivos no desempenho de frangos de corte quando observam aumento nos níveis circulante de mio-inositol no sangue, porém ainda não se sabe a forma com que essa molécula interage no organismo.

Nos trabalhos realizados nesta tese ficou evidente um dos princípios do funcionamento das enzimas em que a hidrólise de fitato pela fitase se torna mais efetiva em dietas que contenham uma presença maior de substrato.

Dentre as reflexões que a elaboração deste trabalho sugeriu os novos trabalhos com fitase e seus efeitos em altas doses, devemos lembrar-nos de algumas informações que ainda não são totalmente exploradas e avaliadas, mas que em um futuro próximo se tornarão usuais tal como foi a adoção da dose de fitase com matriz de cálcio e fósforo.

Os próximos passos da utilização de altas doses de fitase para monogástricos já estão traçados, sendo guiados pela influência de outros fatores tais como os níveis de cálcio das dietas, de preferência cálcio digestível e não mais cálcio total como trabalhamos atualmente, quantidade de fitato das matérias primas mensurados de forma eficiente e rápida, influência do pH da água de bebida e seus efeitos na atividade da enzima, esses e outros fatores farão com que a utilização de altas doses de fitase sejam otimizadas.

REFERÊNCIAS

- ABELSON, P.H. A potential phosphate crisis. **Science**, v. 283, 1.5410, p. 2015, 1999.
- ABO-OMAR, J.M.; SABHA, R. Effects of phytase on broilers performance and body status of phosphorus. **Hebron University Research Journal**, v. 4, p. 55–66, 2009.
- AOUAMEUR, R. et al. SMIT2 mediates all myo-inositol uptake in apical membranes of rat small intestine. **American Journal of Physiology**, Gastrointestinal and Liver Physiology 293:G1300-G1307, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of the association of the agricultural chemists**. 16.ed. Washington, D.C.: 1230p, 1995.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 17th ed. Official Method. Phytase Activity in Feed. Washington DC, USA, 2000.
- ATIA, F.A. et al. Effect of dietary phosphorus, calcium, and phytase on performance of growing turkeys. **Poultry Science**, v. 79; p. 231—239, 2000.
- CAMDEN, B.J. et al. Effectiveness of exogenous microbial phytase in improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in maize–soya-bean meal diets for broilers. **Animal Science**, v.73, p. 289–297, 2001.
- CLARKE, E.; WISEMAN, J. Effect of varying trypsin inhibitor activity of full fat soya on nutritional value for broiler chicks. In: ACAMOVIC, T., STEWART, C.S. & PENNYCOTT, T.W. (Eds) **Poisonous Plants and Related Toxins** (Wallingford, CAB International), 2003.
- COWIESON, A.; BEDFORD, M.; SELLE, P. et al. Phytate and microbial phytase: Implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. **World's Poultry Science Journal**, 65(3), p.401-418, 2000.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. Supplementation of diets containing pea meal with exogenous enzymes: effects on weight gain, feed conversion, nutrient digestibility and gross morphology of the gastrointestinal tract of growing broiler chicks. **British Poultry Science**, v.44, n. 3, p. 427–437, 2003.
- COWIESON, A.J.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M.R. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 45, n. 1, p. 101–108, 2004.
- COWIESON, A. J., RAVIDRAN, V.; SELLE, P. H. Influence of dietary phytic acid and source of microbial phytase on ileal endogenous amino acid flows in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 87, p. 2287–2299, 2008.
- CROZE, M.L.; SOULAGE, C.O. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. **Biochimie**, v.95, p.1811-1827, 2013.
- DAYYANI, N.; ABADI, M B B; FARHANI, A. A. A. Phytate and phytase in poultry

nutrition. **International journal of Advanced Biological and Biomedical Research**. v.1, I. 11, p.1403-1408, 2013.

DRIVER, J.P. et al. Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficiency in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 85, p.1406–1417, 2005.

EECKHOUT, W.; DE PAEPE, M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 47, p.19–29, 1994.

FORSTNER, J.F.; FORSTNER, G.G. Gastrointestinal mucus, In: JOHNSON, L.R. (Ed) Physiology of the Gastrointestinal Tract, p. 1255—1283 (New York, Raven Press), 1994.

GREINER, R et al. **Enzymes in farm animal nutrition**. Cap 5. Phytases: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed. p 96, 2011.

GREINER, R. Phytate-degrading enzymes: regulation of synthesis in microorganisms and plants. In: Turner, B.L., Richardson, A.E. and Mullaney, E.J. (eds) Inositol Phosphates: Linking Agriculture and Environment. CAB International, Wallingford, UK, p. 78–96, 2006.

GREINER, R.; KONIETZNY, U. Phytases: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In: BEDFORD, R.M.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal Nutrition**. 2 ed CAB, London, UK, 2010. Cap 5, p.96-128.

HARTIG, T. Über das Klebermehl. Botanische Z. 13, 881–885, 1855.

HEUBNER, W.; STADLER, H. Determination of phytin by titration. **Biochemische Zeitschrift**, v. 64, p. 422, 1914.

HOLUB, B.J. Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. **Annual Reviews of Nutrition**, v. 6, p.563-597, 1986.

HUBER, K; Cellular myo-inositol metabolism in: C.L,WALK; I,KUHN; H.H, STEIN; M.T,KIDD; M. RODEHUTSCORD **Phytate destruction, Consequences for precision animal nutrition**. First Published Wageningen Academic Publisher, NL, 2016. Cap 4, p.53-59.

JOURDIAN, G.W.; DEAN, L.; ROSEMAN, S. A periodate- resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. **Journal of Biological Chemistry**, v. 246, p. 430–435, 1971.

KASIM, A.B., EDWARDS, H.M.. The analysis for inositol phosphate forms in feed ingredients. **Journal Science Food Agriculture**, v.76, p. 1–9, 1998.

KASIM, A.B.; EDWARDS, H.M. Effect of sources of maize and maize particle size on the utilization of phytate phosphorus in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, p. 15–26, 2000.

KERR, M.J.; CLASSEN, H.L.; NEWKIRK, R.W. The effects of gastrointestinal tract micro-flora and dietary phytase on inositol hexaphosphate hydrolysis in the chicken.

Poultry Science, v. 79, 2000.

KOCHER, A. et al. Effects of enzyme combinations on apparent metabolizable energy of corn-soybean meal based diets in broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 12, p. 275–283, 2003.

KONIETZNY, U.; GREINER, R. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p.791–812, 2002.

LACERDA, E. G. **Adição de fitase na dieta de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade**. 2010. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Curso de Pós Graduação em Ciência Animal - Centro Universitário de Vila Velha.

LATTA, M., & ESKIN, M. A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, n. 6, p. 1313–1315, 1980. Doi:10.1021/jf60232a049.

LIU, S. Y.; COWIESON, A. J.; SELLE, P. H. The influence of meat-and-bone meal and exogenous phytase on growth performance, bone mineralisation and digestibility coefficients of protein (N), amino acids and starch in broiler chickens. **Animal Nutrition**, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405654516300087>>. Acesso em: 01/12/2018

LUTTRELL, B.M. The biological relevance of the binding of calcium ions by inositol phosphates. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, p.1521–1524, 1993.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, L. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal, FUNEP/UNESP. 375p, 2002.

MAENZ, D. D. et al. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a lurry of canola meal. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, p.177- 192, 1999.

MAENZ, D. D.; CLASSEN, H. L. Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. **Poultry Science**, v. 77, p. 557- 563, 1998.

McDOWELL, R.L. Calcium and phosphorus. In: _____. Minerals in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, p.31-32, 1992.

MILES, R.D.; NELSON, T.S. The effect of enzymatic hydrolysis of phytate on the available energy content of feed ingredients for chickens and rats. **Poultry Science**, v. 53, p. 1714–1717, 1974.

MULLANEY, E.J.; ULLAH, A.H.J. The term phytase comprises several different classes of enzymes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 312, p. 179–184, 2003.

NAKANO, K. et al. Sialic acid contents in chicken eggs and tissues. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 74, p. 601—606, 1994.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2011. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

OBERLEAS, D. Phytates. In: Toxicants occurring naturally in foods. National Academy Press, Washington, DC, p. 363-371, 1973.

OFFICER, D.I. AND BATTERHAM, E.S. Enzyme supplementation of Linola? meal for grower pigs. **Proceedings, Australian Society of Animal Production**, v.19, p. 288, 1992.

ONYANGO, E. M.; BEDFORD, M. R.; ADEOLA, O. Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 84, p. 248–255, 2005.

PAYNE, R. L.; LAVERGNE, T. K.; SOUTHERN, L. L. A comparison of two sources of phytase in liquid and dry forms in broilers, *Poultry Science*, v.84, n.2, p.265-272, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/ps/84.2.265>>. Acesso em: 25/11/2018.

PUENTE, R. et al. Changes in ganglioside and sialic acid contents of goat milk during lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 39—44, 1994.

RATH, N.C., HUFF, W.E., BALOG, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v. 79, p. 1024–1032, 2000.

RAVINDRAN, V. et al. Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet. **Poultry Science**, v. 80, p. 338–444, 2001.

ROJAS, S.W.; SCOTT, M.L. Factors affecting the nutritive value of cottonseed meal as a protein source in chick diets. **Poultry Science**, v. 48, p. 819–835, 1996.

RUNHO, R.C. et al. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.187-196, 2001.

RUTHERFURD, S.M.; CHUNG, T.K.; MOUGHAN, P.J. The effect of microbial phytase on ileal phosphorus and amino acid digestibility in the broiler chicken. **British Poultry Science**, v. 43, p. 598–606, 2002.

SANDBERG, A.S., CARLSSON, N.G., SVANBERG, U. Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. *Journal of Food Science*, v.54, n.1, p.159-161, 186, 1989

SANTOS T. T.; WALK, C. L.; SRINONGKOTE, S. Influence of phytate level on broiler performance and the efficacy of 2 microbial phytases from 0 to 21 days of age, **The Journal of Applied Poultry Research**, v.23, n.2, p.181–187, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3382/japr.2013-00842>>. Acesso em: 19/11/2018

SANTOS, F. R. **Efeito da suplementação com fitase sobre o desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos de corte**. 2005. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Curso de Pós Graduação em Zootecnia – Faculdade de

Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal.

SCALERA, V.; NATUZZI, D.; PREZIOSO, G. Myo-inositol transport in rat intestinal brush border membrane vesicles, and its inhibition by D-glucose. **Biochimica and Biophysica Acta**, v.1062, p.187-192, 1991.

SCOTT, T. A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash(Celite)] for determiningappar- entmetabolizable energy ofwheat or barley-based broiler diets with or without enzymes. **Poultry Science**, v. 76: p.594–598, 1997.

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S. P.; CHAVEZ, E. R. et al. Efficacy of Supplemental Microbial Phytase at Different Dietary Calcium Levels on Growth Performance and Mineral Utilization of Broiler Chickens. , **Poultry Science**, v. 75, n. 12, p.1516-23, 1996.

SELLE, P. H. et al. **Enzymes in farm animal nutrition**. Cap 6. Phytate and Phytase P.H. Selle, V. Ravindran, A.J. Cowieson and M.R. Bedford. p. 160, 2011.

SHIRLEY, R.B.; EDWARDS JR. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. **Poultry Science**, v. 82, p. 671-680, 2003.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 21-32, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52731999000100002>. Acesso em: 30/11/2018.

SIMON, O.; IGBASAN, F. In vitro properties of phytases from various microbial origins. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 813–822, 2002.

SIMONS, P.C.M. et al. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 525–540, 1990.

SOUZA, A.F.G.O. Tecido ósseo em frangos de corte. **Revista eletrônica nutritime**, artigo 152, v.9, n.1, p.1663-1679, 2012.

STEENBOCK, H.; LOWE, J.T.; KEIGER, C.H. Cereals and rickets. IX. The availability pf phytin-P to the chick. **Poultry Science**, v.18, p. 40–44, 1939.

SUZUKI, U., YOSHIMURA, K., TAKAISHI, M. Uber ein Enzym “Phytase” das Anhydro-oxy-methylen- diphosphosaure spaltet. **College of Agriculture Tokyo Imperial University**, v. 7, p. 503–505, 1907.

SWICK, R.A.; IVEY, F.J. Phytase: the value of improving phosphorus retention. **Feed Manage**, v. 43, p. 8–17, 1992.

TAMIN, N. M.; ANGEL, R.; CHRISTMAN, M. Influence of dietary calcium and phytase on phytase phosphorus hydrolysis in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 83 n. 8, p. 1358-1367, 2004.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 1, p.1-22, 1991.

WEREMKO, D. et al. Enzymatic efficiency of plant and microbial phytase in cereal-rape seed diets for growing pigs. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.10, p.649-660, 2001.

WODZINSKI, R.J.; ULLAH, A.H.J. Phytase. **Advances in Applied Microbiology**, v. 42, p. 263–303, 1996.

ZIMMERMANN, B. et al. Determination of phytase activity in cereal grains by direct incubation. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 86, p. 347–352, 2002.